

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année Scolaire 1965-1966

N°

50

CONTRIBUTION CRITIQUE et EXPERIMENTALE
à la répartition de la
PHOSPHO - HEXOSE - ISOMERASE

— o —

T H È S E

Présentée et soutenue publiquement le
devant

LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE CLERMONT-FERRAND

pour obtenir

Le GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention : PHARMACIE)

par

Philippe MARTIN

Pharmacien

— o —

Président : M. G. DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury : M. P. BASTIDE, Professeur
M. J.A. BERGER, Professeur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année Scolaire 1965-1966

N°

CONTRIBUTION CRITIQUE et EXPERIMENTALE
à la répartition de la
PHOSPHO - HEXOSE - ISOMERASE

— o —
T H È S E

Présentée et soutenue publiquement le
devant

LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE CLERMONT-FERRAND

pour obtenir

Le GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention : PHARMACIE)

par

Philippe MARTIN

Pharmacien

— o —

Président : M. G. DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury : M. P. BASTIDE, Professeur
M. J.A. BERGER, Professeur



Doyen : G. MEYNIEL - Directeur Honoraire : M. MERLE
(Mme BLANQUET,
(MM. BUREAU;
Assesseur : M. COULET - Professeurs Honoraires (FOURNIER,
(GAUTHIER,
(LIMOUSIN,
(POMMÉ.

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BAUDON	- Clinique Obstétricale
BERGERON	- Pathologie médicale
BERNARD-GRIFFITHS	- Clinique Médicale A
COULET	- Botanique et Microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie Médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Thérapeutique
JACQUEMET	- Technique Chirurgicale
LATAIX	- Pathologie Chirurgicale
MEYNIEL	- Biophysique Médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
PETIT	- Médecine Légale et Médecine Sociale
POROT	- Neurologie et Psychiatrie
POURRAT	- Matière Médicale
ROUHER	- Clinique Ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique Médicale B
THIEBLT	- Physiologie
TRONCHE	- Pharmacie Chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale Infantile

II - Professeurs à titre personnel

MM. THOMAS	- Oto-Rhino-Laryngologie
VIALLET	- Electro-Radiologie

III - Professeurs sans chaire

MM. BASTIDE	- Sciences Naturelles
BERGER	- Chimie Analytique
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B

IV - Maîtres de Conférences Agrégés

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
BOSSY	- Anatomie
Mlle. CHATONIER	- Chimie minérale et minéralogie

IV - Maîtres de Conférences Agrégés (suite)

MM. CLUZEL	- Bactériologie
DELAGE	- Anatomie pathologique
Mmes GAILLARD	- Physique pharmaceutique
MOINADE	- Médecine générale et thérapeutique
MM. PIGNIDE	- Médecine générale
VENRIES DE LA	
GUILLAUMIE	- Anatomie pathologique

V - Agrégés

MM. CHAMPEIX	- Médecine légale et médecine du travail
FOURIER	- Orthopédie
HOUDARD	- Chirurgie générale
JALLUT	- Médecine générale
JANNY	- Neuro-Chirurgie
MENUT	- Pédiatrie et puériculture
MERCIER	- Chirurgie générale
Mlle. RAMPON	- Médecine générale
MM. RENARD	- Pneumo-phtisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

Secrétaire Principal : M. BERTHON

Bibliothécaire Universitaire : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie, doivent être considérés comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation, ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

A mon Père et à ma Mère,

En témoignage de ma profonde affection
et de ma vive reconnaissance.

A mes Grands-mères,

A Michèle PERET,

A mes Soeurs,

A toute ma famille,

A tous mes Amis.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur G. DASTUGUE
Professeur de Biochimie Médicale
Pharmacien Chef des Hôpitaux
Docteur en Médecine et en Pharmacie
Docteur-ès-Sciences

Lauréat de l'Académie de Médecine et de l'Académie des Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur
Commandeur de la Santé Publique
Officier des Palmes Académiques

Il nous a fait l'honneur de nous accueillir
dans son Laboratoire durant un an.
Son érudition et son esprit scientifique
ont sans cesse orienté et suivi nos recherches,
après en avoir inspiré le thème,
avec Monsieur le Professeur P. BASTIDE.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre fidèle attachement et de nos sentiments
de très profonde reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur P. BASTIDE
Professeur de Sciences Naturelles

En témoignage de respectueuse gratitude
pour tous les conseils qu'il nous a prodigés
et la part qu'il a prise dans la direction
de ce travail.

Monsieur le Professeur J.A. BERGER
Professeur de Chimie Analytique

Il nous a fait l'honneur de juger cette
thèse.

Que sa bienveillance à notre égard
trouve ici le témoignage de notre
dévouement.

A TOUS NOS PROFESSEURS DE LA FACULTE MIXTE
DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE CLERMONT-FERRAND

En témoignage de reconnaissance
et de respect.

INTRODUCTION

C'est en 1933 que LOHMANN (105) démontra l'existence de la phosphohexose isomérase, enzyme qui réalise la conversion reversible du Glucose 6 Phosphate en Fructose 6 Phosphate, dans des dialysats de muscles de grenouille et dans de simples extraits aqueux de levure, coeur, rein, foie et cerveau.

En 1936 TANKO (162) et plus récemment SOMERS et COSBY en 1945 (158 - 159) ont mis en évidence la présence de cette enzyme dans la farine de pois.

En 1950 SLEIN (156) a obtenu une préparation partiellement purifiée de phosphomannose isomérase du muscle de Lapin.

De nombreuses études ont alors fait allusion à la large distribution de la phosphohexose isomérase dans différentes espèces bactériennes, végétales, animales, ainsi que dans l'espèce humaine.

Dans ce mémoire, nous étudierons dans une première partie, bibliographique, les propriétés, les techniques de dosage et la répartition de la phosphohexose isomérase (P.H.I.) chez les bactéries, les mollusques, les crustacés, les batraciens, les poissons, les insectes, les oiseaux, les mammifères ainsi que chez différents végétaux.

Nous ne parlerons pas de l'activité phosphohexose isomérasique dans l'espèce humaine. En effet, un travail sur ce sujet est en cours dans les laboratoires de Messieurs les Professeurs DASTUGUE et BASTIDE.

Cependant, nous ne pourrions passer sous silence les travaux extrêmement intéressants de divers auteurs et en particulier BODANSKY (24-25-26-27-28-29-30-31-32-33-34-35-36-37) sur la répartition de la P.H.I. dans le sérum sanguin humain, ainsi que les variations pathologiques de cette enzyme dans les dystrophies musculaires (20-66-145-146), les altérations du myocarde (22-81-106-133-188), les cancers de la prostate (30), du sein (36-141), de l'oesophage (151), les tumeurs cérébrales (137-149),

les tumeurs avec métastases (127-135-165), les leucémies. (89), les affections hépatiques telles que les cirrhoses (40-121), le diabète et l'obésité (75) ainsi que dans les affections hémolytiques (78-79).

Dans une deuxième partie, expérimentale, nous avons étudié :

a) l'influence de la congélation et de la dilution sur l'activité de l'enzyme.

b) l'activité de cette enzyme dans trois espèces animales : chez Rana esculenta, Vipera aspis et Cavia cobaya. Dans chacune de ces espèces nous avons étudié cette enzyme dans le muscle, le foie, l'intestin, le coeur, les poumons, les reins, le cerveau pour Cavia cobaya, ainsi que, dans la mesure du possible, dans les hématies et le plasma de Vipera aspis, Rana esculenta, Cavia cobaya et Testudo graeca.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer notre respectueuse gratitude à notre Maître, Monsieur le Professeur DASTUGUE, qui non seulement a inspiré le sujet de cette thèse mais en a sans cesse guidé la réalisation de ses conseils éclairés, ainsi que nos meilleurs remerciements à Monsieur le Professeur BASTIDE dont l'amabilité et les profondes connaissances scientifiques ont grandement facilité notre tâche.

Nos remerciements iront aussi à Monsieur le Professeur BERGER qui, durant trois ans, nous prodigua son enseignement, de nombreux conseils amicaux et qui nous fit un grand plaisir en acceptant de juger ce modeste travail.

Nous voulons exprimer notre vive reconnaissance à notre Maître de stage Monsieur ROY, ainsi qu'à Monsieur BOURDEAU, pour nous avoir accueilli si amicalement dans son officine pendant une année, dont nous garderons le meilleur souvenir.

Que tout le personnel du Laboratoire de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie, que nos camarades d'études Messieurs BORDERIEUX, RIGAUDIERE,

VOISSIERE, Mademoiselle ROCHE et Madame P. GODE-
NECHE soient assurés ici de notre amical souvenir.

Nous tenons enfin à exprimer ici notre profonde reconnaissance à tous nos Maîtres de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand pour la qualité de l'Enseignement qu'ils nous ont prodigué.

PREMIERE PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

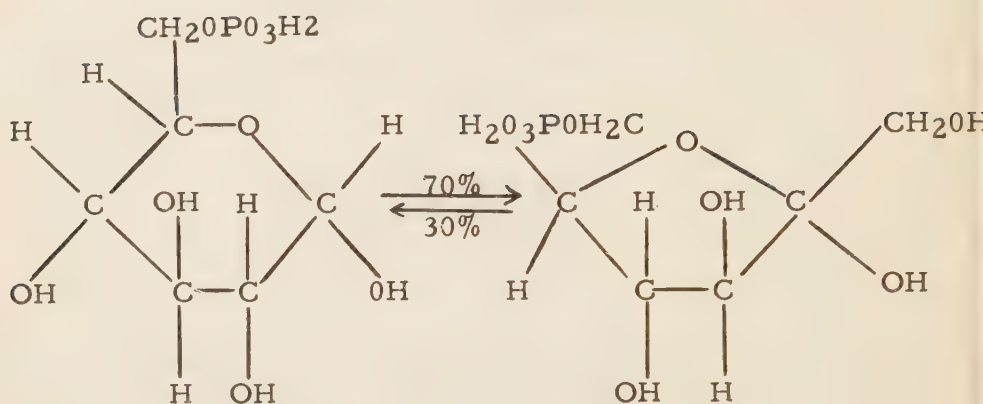
CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

La phosphohexomutase ou phosphohexose isomérase de LOHMANN, découverte par cet auteur en 1933 (105) permet l'isomérisation du glucose - 6 - phosphate (G-6-P) en fructose - 6 - phosphate (F-6-P).

Que le glucose provienne du glycogène ou du glucose circulant, la cellule ne l'utilise que sous forme de glucose-6-phosphate. Les voies de dégradation du glucose (glycolyse) partent de cet ester de ROBISON. La principale voie glycolytique a été en grande partie élucidée par les travaux de l'école de MEYERHOF et on la désigne souvent par l'expression " Voie de EMBDEN-MEYERHOF ". Ce qui la caractérise, c'est la formation d'un ester diphosphorique du fructose, l'ester que HARDEN et YOUNG avaient isolé dès 1900 au cours de la fermentation alcoolique de la levure.

L'action de la phosphohexose isomérase de LOHMANN se place tout au début de la voie de EMBDEN-MEYERHOF. Sous l'action de cette enzyme, le cycle pyranique de l'ester glucopyranose - 6 - phosphorique, ou ester de ROBISON, s'équilibre avec un cycle furanique : la phosphohexose isomérase réalise la transformation aldose-cétose, et il apparaît un ester fructo-furanose-6-phosphorique, ou ester de NEUBERG. L'équilibre correspondant à environ 30 p. 100 de F-6-P.



Ester de ROBISON.

Ester de NEUBERG



Dans des études récentes ROSE et O'CONNEL (141) ont confirmé les résultats de TOPPER (166) sur le mécanisme d'action des isomérases et ont montré que le fructose-6-phosphate marqué avec le tritium sur C₁ est transformé par la glucose phosphate isomérase en glucose-6-phosphate marqué sur le C₂.

CHAPITRE II

PROPRIETES DE LA PHOSPHOHEXOSE ISOMERASE

BODANSKY (27) dans son étude sur la phosphohexose isomérase remarque que la constitution de cette enzyme n'a jamais été élucidée. Nous passerons donc directement à ses différentes propriétés.

I - Influence de la température.

Une solution de phosphohexose isomérase chauffée au delà d'une certaine température perd irréversiblement ses propriétés (thermolabilité). BODANSKY a étudié cette inactivation de la phosphohexose isomérase du sérum humain suivant les variations de température (27). D'après le tableau suivant on peut fixer cette température létale à + 55°C.

INACTIVATION DE LA P.H.I. DU SERUM HUMAIN SUIVANT LES VARIATIONS DE TEMPERATURE

Température de l'inac- tivation	Fructose-6-phosphate		Glucose-6-phosphate	
	Taux de disparition du F-6-P en fructose	Activité en fraction de l'enzyme inactivé	Taux de formation du F-6-P en fructose	Activité en fraction de l'enzyme inactivé
Contrôle	μ g/ml/mn	%	μg/ml/mn	%
	2.53	100	5.70	100
40	2.60	103	5.30	93
45	1.50	59	4.80	84
50	1.17	46	3.80	67
55	0.00	0	0.40	8
60	0.00	0	0	0

La température de 37°C étant celle où l'on obtient la meilleure activité P.H.I. : c'est la " température optimum ".

De même qu'une augmentation de température diminue, puis arrête complètement l'activité enzymatique, il en est de même pour un abaissement de température.

BASTIDE, JACQUEMET, SAINT-MARC et DASTUGUE (14) ont étudié l'activité phosphohexose isomérasique au cours de la conservation du sang. Ils ont montré que cette activité demeure relativement stable à + 4°C dans le plasma séparé des érythrocytes au moment du prélèvement, le plasma lyophilisé et le sang complet.

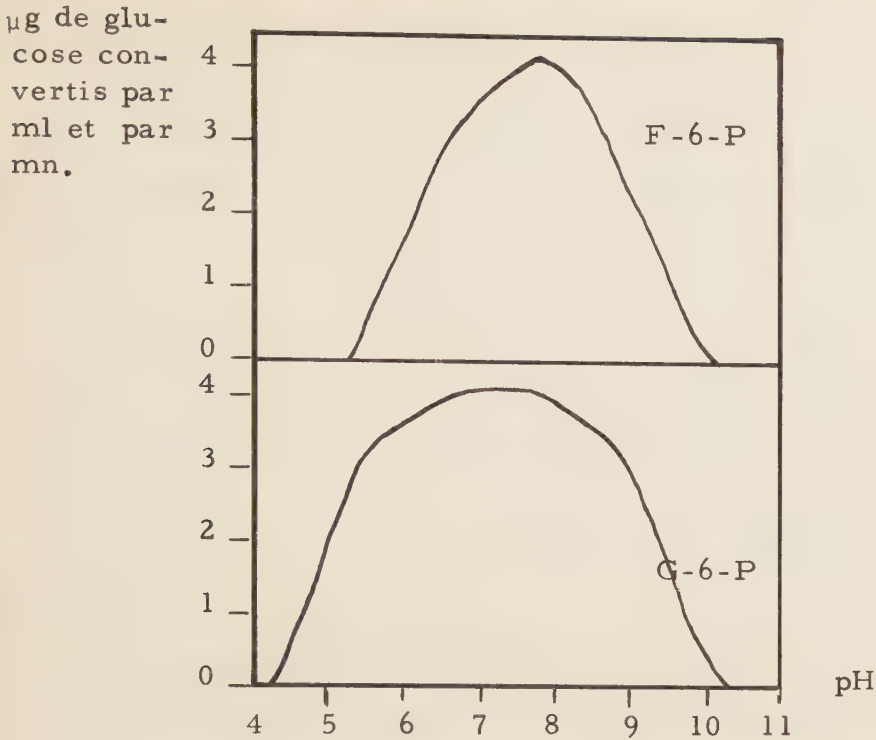
BALLADE, BASTIDE et DASTUGUE (9) ont étudié l'activité P.H.I. chez Hélix pomatia et concluent qu'aucune variation d'activité de cette enzyme n'est observée pour aucun des organes ou humeurs après une congélation à - 20° C.

Ces résultats s'opposent dans une certaine mesure avec ceux de BASTIDE, JACQUEMET, SIMON, PLAT et DASTUGUE (16) qui obtiennent un abaissement de l'activité phosphohexose isomérasique des plaquettes sanguines après congélation.

De notre côté, nous avons étudié l'influence de la congélation à - 25° C sur un homogénat de muscle gastrocnémien de Rana esculenta, ainsi que nous le verrons dans notre partie expérimentale : nous avons observé une baisse considérable de cette activité P.H.I.

II - Influence du pH

BODANSKY (27) a étudié l'action du pH sur la phosphohexose isomérase du sérum humain.



A la lecture de ce tableau, on constate tout d'abord l'existence de deux pH limites, en deçà et au delà desquels l'action est nulle.

Entre ces deux pH l'activité présente un maximum à un pH optimum de 7,4.

C'est ce pH que BODANSKY (27) BRUNS et HINSBERG (42), BRAGINSKII (38), SCHWARTZ, HESSLER (150), DASTUGUE, BASTIDE et DUBIEF (17) ont utilisé pour doser cette enzyme.

III - Effet de la concentration en enzyme.

Ainsi que le montre BODANSKY (27) la rapidité de la réaction enzymatique est directement proportionnelle à la concentration de l'enzyme.

IV - Influence de la concentration en substrat.

BODANSKY (27) a étudié cette influence de la concentration de substrat et a établi une relation entre la concentration de G-6-P Ba et la rapidité de la réaction de la P.H.I. du sérum en accord avec l'équation de LINEWEAVER et BURK :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_3}{V_{\max}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{\max}}$$

V = vitesse initiale de réaction exprimée en fructose formé/ml mixture/mn.

S = concentration de substrat en moles/litre.

V_m = vitesse de réaction à la concentration maxima du substrat.

A 37° - A pH = 7,3 - 7,7.

Concentration de sérum en volume m/l de réaction de mixture	Rapidité de la réaction en réciproque du temps nécessaire pour former 100 _μ g de fructose en F-6-P par ml de mixture réactive.	Vitesse de Réaction
		Concentration de l'enzyme
ml	mn	K
0.02	0.0180	0.90
0.04	0.0323	0.81
0.10	0.083	0.83
0.20	0.167	0.84

V - Influence de la dilution des préparations.

DASTUGUE, BASTIDE et CHEVALIER (58) ont étudié l'activité phosphohexose isomérasique des hémolysats de cheval en fonction de leur dilution. Cette activité passe par un maximum pour une dilution donnée :

Dilution des hémolysats :	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/150
P.H.I.	20	22	24	25	31	22	17

Dans nos différentes mesures, nous obtenons des résultats sensiblement analogues, en ce sens, que dans certains cas il est nécessaire de diluer plus de cent fois la préparation initiale pour obtenir un début de baisse d'activité. Nous reviendrons sur ce problème dans notre partie expérimentale et nous nous contentons de donner ici au passage les résultats obtenus sur le foie de Rana esculenta en 15 mn d'incubation.

Dilution :	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/5000	1/10000
P.H.I.	32	32	30	30	14	6

VI - Effecteurs de la réaction phosphohexose isomérasique.

Outre les différents facteurs physiques dont nous avons étudié l'influence sur l'action enzymatique, il existe des activateurs et des inhibiteurs de cette action. Nous étudierons ici aussi bien les effecteurs in vitro que in vivo.

1/ Le tétrachlorure de carbone C CL₄

BRUNS et NEUHAUS (44) ont étudié l'activité phosphohexose isomérasique du sérum et du foie dans l'intoxication expérimentale au tétrachlorure de carbone chez la souris. Les auteurs ont évalué la teneur en P.H.I. du sérum sanguin et du foie avec des animaux normaux d'une part et intoxiqués d'autre part.

A des souris blanches femelles de 20 à 30 grammes ils injectent par voie intrapéritonéale 0,07 ml de CCL_4 dans 4 ml d'huile d'olive. Ils déterminent l'activité P.H.I. d'après la méthode de BRUNS et HINSBERG (42). Cette activité étant donnée par la quantité de fructose-6-phosphate en μg formé par heure et par ml de sérum et par 1 gramme de foie frais à $+ 37^\circ \text{C}$.

Le sérum de souris femelles et saines libère par heure 65 à 120 mm³ soit 750 à 1390 μg de F-6-P (voir p. 22) en moyenne 100 mm³ soit 1160 μg . Déjà quelques heures après l'injection intrapéritonéale de 0,07 ml de CCL_4 pour 24 g de souris, ils constatent que l'activité de l'enzyme sérique s'élève d'une façon significative et atteint un maximum 18 à 20 heures après l'injection. L'augmentation est de 15 à 20 fois plus grande que l'activité normale. Après 48 heures, l'élévation est encore notable, le niveau physiologique étant de nouveau atteint après 70 heures.

Alors que dans le sérum ces auteurs obtiennent une élévation de l'activité P.H.I., dans le foie, il se produit une diminution de la concentration en enzyme. La teneur en P.H.I. baissant de 40%. BRUNS et NEUHAUS en déduisent qu'ils ont prouvé expérimentalement que les enzymes glycolytiques sont libérées dans le sérum par les cellules atteintes du foie.

Dans d'autres travaux (45) ces deux auteurs confirment ces résultats. Il en est de même pour SCHOLLER, BODANSKY, FORTNER, PHILIPS et STERNBERG (149) ainsi que pour HESS (83).

2/ Les ions métalliques.

BODANSKY (27) a étudié l'action du Magnésium, Mg^{++} qui, à des concentrations de l'ordre de 10^{-3} , ne produit aucun effet. Il obtient ainsi des résultats semblables à ceux de LOHMANN (105).

Les ions, Zn^{++} à des concentrations de 10^{-4} ou 10^{-5} , ne produisent pas d'inhibition. Mais à une concentration de 10^{-3} on obtient 50 à 60% d'inhibition avec F-6-P Na,

comme substrat et 40% d'inhibition si le substrat est G-6-P Na, (BODANSKY, 105).

SLEIN (155) obtient une inhibition de 30% de l'activité P.H.I. avec le Cobalt et le Manganèse, et de 25% à pH = 7,5 avec le pyrophosphate et l'orthophosphate inorganiques. Il opérait sur des homogénats de muscle de lapin. GULYI et KOLOMIICHENKO (80) obtiennent une inhibition de la P.H.I. avec l'arsenic.

3/ Cortisone.

WEBER, BANERJEE et BRONSTEIN (181) ont étudié les effets d'injection de cortisone, chez des rats surrenalectomisés ou hypophysectomisés, sur les enzymes hépatiques et en particulier sur la P.H.I. Ils ont ainsi trouvé une augmentation considérable de cette enzyme. WEBER reprenant alors ses travaux avec SUMATI et MANWARING (187) a trouvé également une augmentation de l'activité phosphohexose isomérasique après injection, chez des rats normaux : l'éthionine et l'actinomycine abaissant cette activité P.H.I. et donc inhibant la phosphohexose isomérase.

4/ Thyroxine.

SARENA, VISWANATHAN, MEHROTRA et KRISHNAN (144) ont administré durant 10 semaines à des rats, de la thyroxine. Ils ont constaté une activité P.H.I. supérieure à celle des rats normaux. La P.H.I. étant dosée dans des homogénats de foie.

5/ Poisons métaboliques.

HESS (83) par injection intrapéritonéale de mono iodo acétate, fluoracétate et dinitrophénol constate une augmentation de la phosphohexose isomérase du sérum.

6/ Méthyl 6 Purine.

FODOR et BODANSKY (183) par administration de méthyl 6 purine obtiennent des taux plus élevés de P.H.I. dans des homogénats de foie de rat que lors des contrôles.

7/ BARBAN et SCHULZE (11) obtiennent, dans des cultures de cellules humaines, une inhibition de la P.H.I. par le 2 déoxyglucose et le 2 deoxyglucose phosphate.

GRAZI, FLORA et PONTRE MOLI (77), en étudiant les inhibiteurs de la phosphoglucose isomérase ont réalisé son inhibition par le D erythrose 5 phosphate.

8/ Radiations ionisantes.

MYTAREVIA (117) a étudié les effets d'une irradiation totale sur l'activité phosphoglucose isomérasique des organes et tissus de rats. Pour une irradiation de 500 röntgens, il n'obtient aucun changement d'activité après deux jours. A la dose de 1000 röntgens, il constate une baisse d'activité P.H.I. de 25% dans le foie et de 24% dans la rate, après trois jours.

9/ Nous avons classé dans ce chapitre une variation particulière de l'activité P.H.I. chez la souris. BROUN (41) a en effet étudié la variation de la phosphoglucose isomérase érythrocytaire lors de l'infestation de la souris par un parasite intracellulaire des rongeurs (Plasmodium berghei). La souris inoculée par ce parasite fait une infection à évolution rapide, constamment mortelle en 5 à 15 jours. BROUN inoculait 12 souris femelles adultes, par voie intrapéritonéale, par quelques gouttes de suspension d'érythrocytes parasités, dans une solution isotonique de citrate de sodium. Il opérait avec 6 souris témoins. Le prélèvement de sang est effectué à la queue, la phosphohexose isomérase étant mesurée par la méthode de BODANSKY (28). Il obtenait une augmentation du taux de P.H.I. malgré une déglobulisation progressive avec hypochromie globulaire. La chute du nombre de globules rouges coïncidant avec un maintien de l'activité enzymatique érythrocytaire. Il exprimait ses résultats en activité enzymatique de globules rouges par 1 ml de sang et pour 1 gramme d'hémoglobine ainsi que le montrent les deux tableaux suivants :

Jours	P.H.I./ml			
	I	II	III	IV
0	5.6	6.5	5.4	5.3
3	5.5	5.6	6	5.4
6	5.6	6.1	6	5.9
9	7.2	9.4 +	7.6 ⁺	
12	8.3			

Jours	P.H.I./gHb			
	I	II	III	IV
0	57.5	53	52	61
3	61	54	78	85
6	77	83	128	179
9	165	235 +	346 ⁺	
12	260			

d'après BODANSKY (17)

I Souris (25-30g) ayant eu un régime lacté. - II-III Souris (25-30g) sans régime lacté. - IV Souris sans régime lacté.
 + Moyennes de deux souris.

CHAPITRE III

TECHNIQUES DE DOSAGE

Nous passerons successivement en revue les techniques de BODANSKY (28), de BRUNS et HINSBERG (42), de BRAGINSKII (38), de SCHWARTZ, KESSLER et BODANSKY (150), de BASTIDE, BAUDON, MEUNIER, DASTUGUE (17).

I - TECHNIQUE DE BODANSKY

1/ PRINCIPES GENERAUX : La première méthode de dosage de l'activité phosphohexose isomérasique fut donnée par BODANSKY (28). La détermination de cette activité P.H.I. fut faite dans le sérum. Elle est basée sur la conversion à pH = 7,4 et à + 37° C de 0,002 M de glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate en 30 minutes par une quantité convenable de sérum. Le point d'équilibre de la réaction est d'environ 40% de F-6-P pour 60% de G-6-P, un maximum de 144 µg de F-6-P peut être formé par ml de substrat.

L'activité enzymatique est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Activité de la préparation inconnue : } \frac{1}{E'_a} = E_b \times \frac{1}{E_a \times E'_b}$$

Equation 1.

Cette méthode d'expression emploie une courbe de référence qui est construite en déterminant les quantités de substrat transformées en un temps T par des concentrations variées d'une préparation arbitrairement choisie d'une enzyme.

E_a est la concentration de la préparation de référence qui

produit un changement arbitraire mais conventionnel S_1 , en un temps T .

$E'b$ est la concentration de la préparation inconnue qui produit un changement observable S_2 , dans le substrat, dans le temps annoncé T .

E_b est la concentration de la préparation d'enzyme référence qui produirait le changement S_2 dans le temps T .

$E'a$ est défini comme la concentration de la préparation inconnue qui produirait le changement standard S_1 dans le temps T .

Les activités exprimées au moyen de l'équation 1 fournissent le critère d'une mesure correcte de la vitesse de la réaction dans laquelle elles sont directement proportionnelles à la concentration de l'enzyme. L'application de l'équation 1 à la phosphohexose isomérase sérique implique une courbe de référence. Le changement standard S_1 est arbitrairement désigné à 25 μ g. E_a la concentration de l'enzyme référence, nécessaire pour produire ce changement en 30 minutes est 0,0037 ml de sérum par ml de la mixture de la réaction. La concentration du sérum inconnu, $E'b$, qui est employé habituellement, est de 0,04 ml par ml de mixture de réaction.

$$\longrightarrow \frac{1}{E_a \times E'b} = \frac{1}{0,0037 \times 0,04}$$

L'activité des différents sérums peut être obtenue en multipliant ce facteur par E_b qui est la concentration du sérum de référence nécessaire pour produire le changement S_2 . Si on emploie 0,01 ou 0,005 ml de sérum, la concentration de la préparation d'enzyme référence est multipliée par 26,8 ou 53,6.

Selon BODANSKY, l'activité P.H.I. du sérum peut être définie " comme la réciproque de la concentration de sérum, exprimée en ml par ml de solution tamponnée de substrat, qui produit la formation de 25 μ g de fructose-6-phosphate en 30 minutes par ml de substrat de 0,002 M glucose-6-phosphate à pH = 7,4 et à + 37°C. ".

TABLEAU DES UNITES BODANSKY D'ACTIVITE P.H.I.

Quantité de fructose obtenu en μg Unités d'activité P.H.I.
(0,04 ml de sérum/ml)

μg	unités	μg	unités	μg	unités	μg	unités
1	1	36	36	71	84	106	161
2	2	37	37	72	86	107	163
3	3	38	38	73	88	108	166
4	4	39	39	74	90	109	170
5	5	40	40	75	92	110	172
6	6	41	41	76	93	111	176
7	7	42	42	77	94	112	179
8	8	43	43	78	97	113	182
9	9	44	44	79	99	114	186
10	10	45	45	80	100	115	194
11	11	46	46	81	101	116	198
12	12	47	47	82	103	117	202
13	13	48	48	83	106	118	206
14	14	49	50	84	107	119	208
15	15	50	51	85	109	120	212
16	16	51	52	86	111	121	216
17	17	52	54	87	113	122	220
18	18	53	55	88	115	123	224
19	19	54	56	89	117	124	229
20	20	55	58	90	120	125	234
21	21	56	60	91	122	126	240
22	22	57	61	92	123	127	245
23	23	58	62	93	126	128	252
24	24	59	64	94	128	129	257
25	25	60	66	95	131	130	264
26	26	61	67	96	133	131	272
27	27	62	69	97	136	132	278
28	28	63	70	98	139	133	286
29	29	64	72	99	141	134	293
30	30	65	74	100	144	135	300
31	31	66	76	101	147	136	307
32	32	67	78	102	149	137	314
33	33	68	80	103	153	138	324
34	34	69	81	104	155	139	331
35	35	70	84	105	158	140	340

N.B. - Si on emploie 0,01 ml ou 0,005 ml sérum/ml; il faut multiplier les unités par 4 ou 8.

2/ SUBSTRAT TAMPONNE :

G-6-P, Ba, 7 H₂O : 7,820 mg. On ajoute à ces 7,820 mg : 20 ml d'eau distillée et de l'HCl concentré jusqu'à dissolution. A la mixture ainsi obtenue ajouter : 21,30 ml de S₀₄Na₂ à 10%. On obtient ainsi un précipité de sulfate de baryum. Centrifuger puis ajouter 1 goutte de S₀₄Na₂ pour voir si la précipitation est complète. Si nouvelle précipitation, rajouter S₀₄Na₂ puis centrifuger. Ajuster le pH à 7,4. Compléter avec de l'eau distillée à 500 ml. Tampon selon Michaelis véronal acétate.

CH₃ C₀₀ Na : 9,714 mg
Véronal sodé : 14,714 mg
dans 500 ml d'eau distillée.

Le substrat tamponné est composé de :

83,3 ml de solution de G-6-P Ba
+ 250 ml de tampon selon MICHAELIS
+ 250 ml de HCl 0,1 N
Compléter à 1000 ml. Réajuster le pH à 7,4.

3/ REACTION :

2 ml de substrat tamponné + 0,5 ml de sérum. Incubation 30 minutes à + 37° C. Ajouter 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 5% pour stopper la réaction. On dose alors colorimétriquement le fructose formé par la méthode de ROE (140) : 2 ml de filtrat + 2 ml de Résorcinol à 0,1% dans l'alcool absolu. Ajouter 6 ml d'HCl 10 N. Incubation 15 minutes à 80° + 1° C. On passe alors au photocalorimètre à 490 m_μ

4/ PRECISION DE LA DETERMINATION DE LA P.H.I. SERIQUE :

BODANSKY donne, après avoir exposé sa méthode, un tableau indiquant les unités P.H.I. obtenues après deux mesures d'un même sérum et cela sur 13 sérums.

Origine des sérums	1ère détermination unités	2ème détermination unités	Moyenne unités	Moyenne déviation unités
B	84	86	85	1
G	67	74	70,5	3,5
K	33	29	31	2
Ma ₁	90	90	90	0
S ₁	100	107	103,5	3,5
S ₂	50	51	50,5	0,5
B	41	41	41	0
P	52	51	51,5	0,5
St	220	224	222	2
S ₃	38	30	34	4
R	84	86	85	1
Ma ₂	182	182	182	0
S ₄	27	29	28	1

d'après BODANSKY : (28)

Comme on peut s'en rendre compte, il existe peu de différence entre les deux mesures ce qui prouve la fidélité de la méthode et la constance de l'activité P.H.I.

II - TECHNIQUE DE BRUNS et HINSBERG

La même année que parait la technique de dosage de BODANSKY, BRUNS et HINSBERG exposent une autre méthode de détermination de l'activité P.H.I. du sérum (42). Les principes généraux sont les mêmes, seules la réalisation et les concentrations des réactifs diffèrent. ;

En effet ces deux auteurs emploient : du glucose-6-phosphate, sel de sodium, 0,6 M. Acide trichloroacétique à 7% . HCl 30% .

Ils obtenaient leur G-6-P Na à partir du G-6-P Ba, 7 H₂O au moyen de sulfate de soude.

REACTION.

1 ml de sérum est mis au bain marie avec 1 ml de tampon au véronal et 1 ml de solution de G-6-P pendant 30 ou 60 minutes à + 37° C. On effectue la défécation avec 7 ml d'acide trichloroacétique à 7% et l'on filtre. A 2 ml du filtrat, soit 0,2 ml de sérum, on ajoute 2 ml de solution de résorcine et 6 ml d'HCl. On chauffe 8 minutes au bain marie à + 80° C et l'on refroidit 5 minutes dans de l'eau froide. Il se développe une couleur rouge dont l'extinction se mesure à 490 m μ avec un spectrophotomètre COLEMAN. Pour mesurer l'activité de l'enzyme, ces auteurs donnent la quantité de F-6-P en millimètre cube qui se forme dans les conditions données avec 1 ml de sérum à + 37° C, à pH = 7,8, par heure, à partir de G-6-P. (1 micromole F-6-P = 260 μ g = 22,4 mm³).

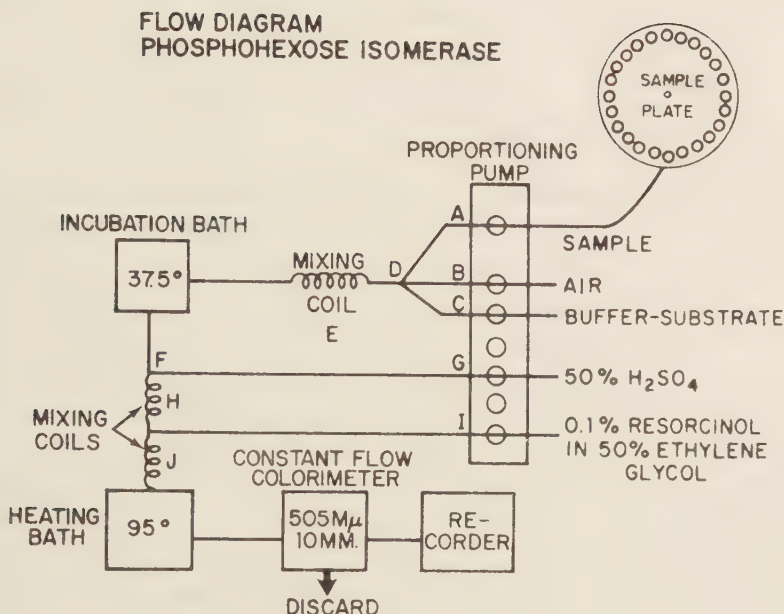
III - TECHNIQUE de BRAGINSKII

Cet auteur modifie la technique de BRUNS et HINSBERG de la manière suivante (38) : Il emploie 0,25 ml de sérum dont il précise bien qu'il doit être non hémolysé. + 0,50 ml de glucose-6-phosphate Ba, 0,03 M dans le tampon MICHAELIS. Incubation de 30 minutes à + 37° C. Ajouter 1,75 ml d'acide trichloroacétique à 7%. Centrifugation. A 1 ml de surnageant, ajouter 1 ml d'une solution alcoolique de résorcinol à 0,1% et 3 ml d'acide acétique à 30%. Incubation de 8 minutes à + 80° C. Refroidir, puis appréciation au photolorimètre à 490 m μ .

IV - DETERMINATION AUTOMATIQUE DE L'ACTIVITE P.H.I. par SCHWARTZ, KESSLER et BODANSKY.

Ces auteurs déterminent l'activité P.H.I. à l'aide d'un Auto-Analyseur (150).

Le schéma de cet appareil peut se reproduire de la sorte :



Nous passerons sur les détails techniques de cet appareil pour ne retenir que la manière dont s'opère la réaction.

Les différences de cette méthode avec la méthode plus artisanale de BODANSKY (32) sont les suivantes :

L'incubation de + 37° passe à + 37° 5 et ce durant 11 minutes. Pour stopper la réaction, ces auteurs emploient H₂SO₄ à 50%. L'éthanol est remplacé par de l'éthylène glycol. La température pour le développement de la coloration est de + 95° C durant 5 minutes, 80% de l'intensité maximum étant atteint en 90 secondes. Ces auteurs opèrent avec un filtre de 505 mμ. Dans ce cas là, la transmission est 92% de la transmission maximum obtenue entre 490 et 495 mμ. Lors des calculs de l'activité P.H.I. on utilise la même table, convertissant les μg de fructose formés en unités BODANSKY, que lors de la

méthode manuelle. Ces auteurs comparent enfin les résultats obtenus avec cette méthode automatique et la méthode manuelle de BODANSKY (32).

Ainsi que le montre le tableau suivant, les résultats sont sensiblement équivalents :

COMPARAISON ENTRE LA METHODE MANUELLE ET
AUTOMATIQUE DE LA DETERMINATION DE L'ACTIVITE
P.H.I. DU SERUM

Sérums	Méthode manuelle .		Méthode automatique	
	Moyenne unités	Moyenne déviation unités	Moyenne unités.	Moyenne déviation unités
1	35	1	35	2
2	39	2	38	2
3	95	3	97	3
4	71	2	72	6
5	78	7	76	1

d'après BODANSKY (150)

V - TECHNIQUE DE BODANSKY

adaptée par BASTIDE, BAUDON, MEUNIER, DASTUGUE.

C'est cette dernière technique (17) que nous avons utilisée tout au long de ce travail.

a) PRINCIPE :

Le taux de conversion du G-6-P en F-6-P est mis en évidence par la coloration que donne, à chaud, le fructose avec le résorcinol, en présence d'ions ferriques, en milieu acide, suivant le principe de la réaction de SELIVANOFF. Il se forme aux dépens du lévulose converti du 4-hydroxy-méthyl-furfural, dont la condensation avec le résorcinol se trouve accélérée par la présence d'ions ferriques, pour donner un produit coloré, qui se prête à une

estimation photolorimétrique quantitative selon la méthode de ROE (140).

b) REACTIFS :

Substrat : agiter avec une baguette de verre 0,391 g de G-6-P Ba, 7 H₂O Boehringer (PM = 521,7) avec 2 ml d'eau distillée et une quantité suffisante d'HCl 0,1 pour dissoudre, dans un tube à centrifuger. Ajouter goutte à goutte en homogénéisant 4 ml de SO₄Na₂ anhydre à 5 p. 100, pour précipiter le baryum. Triturer, centrifuger, prélever le surnageant limpide et vérifier, par addition d'une goutte de la solution de SO₄Na₂, que la précipitation a été totale, avant de l'ajuster à pH 7,4 à l'aide d'une solution normale de NaOH. Compléter à 25 ml avec de l'eau distillée, et conserver à -25°C dans des petits flacons en polythène. Tampon véronal-acétate selon MICHAELIS : 0,714 g de CH₃COONa, 3 H₂O + 14,714 g véronal Na et eau q.s.p. 500 ml. Substrat tamponné : Mélanger 8,33 ml de la solution de substrat, 25 ml de la solution tampon, 24 ml d'HCl 0,1 N. Ajuster à pH 7,4, compléter à 200 ml avec de l'eau distillée, homogénéiser et répartir dans des flacons en polythène qui seront conservés congelés à -25°C. Solution aqueuse d'acide thrichloracétique à 5 p. 100. Solution de résorcinol à 0,1 p. 100 dans l'éthanol absolu. Solution chlorhydrique de perchlorure de fer : dissoudre extemporanément 0,75 mg de perchlorure de fer dans 100 ml d'HCl 10 N.

c) PROTOCOLE EXPERIMENTAL :

Nous traitons simultanément : chaque essai, comportant 0,5 ml de préparation enzymatique et 2 ml de solution tamponnée de substrat ; et les témoins :

Ts (isomérisation spontanée) : 0,5 ml d'eau distillée + 2 ml de solution tamponnée de substrat.

Tc (pour tester la quantité de fructose de la préparation enzymatique) : 0,5 ml de préparation enzymatique + 2 ml de tampon barbital.

T₁₀₀ (pour le réglage du photolorimètre) : 0,5 ml d'eau distillée + 2 ml de tampon barbital.

Après une incubation au bain-marie à 37°C, pendant le temps choisi (5 et 15 minutes), la réaction est arrêtée par addition, dans chaque tube, de 2,5 ml de solution d'acide trichloracétique à 5 p. 100. Une centrifugation suffisante clarifie le surnageant sur lequel nous dosons le fructose converti, ainsi qu'il suit : à 2 ml de défécant, nous ajoutons 2 ml de résorcinol à 0,1 p. 100 dans l'éthanol absolu, et 6 ml de solution chlorhydrique de perchlorure de fer. Un tel mélange est porté, pendant 8 minutes précises, au bain-marie à 80° C + 1° C, puis refroidi immédiatement sous l'eau courante, avant d'apprécier la coloration rose carminée au photolorimètre à 480 - 490 m μ . L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de fructose à 90 mg/l, traitée comme les 2 ml de surnageant. Des tubes, contenant respectivement 0 - 0,2 - 1,8 - 2 ml de cette solution de fructose et 2 - 1,8 0,2 - 0 ml d'eau distillée, permettent d'obtenir une gamme correspondant à 0, 10, 20 90 et 100 p. 100 de conversion du substrat.

Dans tous nos tableaux, nos moyennes sont ainsi exprimées. Ainsi le chiffre 16 par exemple, signifie que nous avons 16 p. 100 de conversion du substrat tamponné.

CHAPITRE IV

REPARTITION DE LA PHOSPHOHEXOSE ISOMERASE

I - Bactéries et champignons microscopiques.

Divers auteurs ont étudié l'activité enzymatique de cultures de mycobactéries et de levures. Chez un certain nombre, ils ont relevé une présence de phosphohexose isomérase.

C'est ainsi qu'en 1954 STARR et KLEIN (160) étudiant les enzymes impliquées dans l'utilisation des glucides par deux filtrats de Myxobactéria ont mis en évidence la présence de P.H.I.

SHANKAR et BARD en 1955 (154) ont découvert une activité phospho gluco isomérasique dans les cultures de Clostridium perfringens alors qu'ils cherchaient à élucider l'effet des ions métalliques et en particulier du magnésium sur la croissance, la morphologie et le métabolisme de ces cultures.

VANDERMARK et WOOD en 1956 (170) étudient l'action sur le glucose des cultures de Microbacterium lacticum et constatent une présence de P.H.I.

VOLK et MYRVIK (173) se servent d'extraits de cellules de Mycobactérium stegmatis qu'ils font réagir sur le glucose et en concluent à une présence de phosphohexose isomérase.

SHAN-CHIUNG-SHÊN, CHUN PIA CHÊN et MUNG-MING-HUNG (153) détectent la phosphohexose isomérase

dans les extraits de cellules de Streptomyces aureofaciens.

MAITRA et ROY (107) concluent à la présence de P.H.I. dans les cultures de Streptomyces olivaceus après avoir étudié leur action sur le glucose.

De même pour BASTARRACHEA, ANDERSON et GOLDMANN (12) quant aux cultures sur cellules fraîches de Mycobacterium tuberculosis.

Etudiant les enzymes du mycélium d'Aspergillus niger, JAGANNATHAN et SINGH (90), mettent en évidence l'action de la P.H.I. responsable de l'équilibre entre G-6-P (70%) et F-6-P (30%) et étudiant les variations de cette enzyme au cours de la fermentation concluent que l'activité phosphohexose isomérasique est maximum entre le 3ème et le 5ème jour de cette fermentation, puis baisse (55).

La P.H.I. fut détectée dans les spores germinants d'Aspergillus niger après 18 heures d'incubation dans un milieu synthétique, par BHATNAGAR et KRISHNAN (21).

NOLTMANN et BRUNS (122) obtiennent à partir de la levure de bière une préparation concentrée de phospho gluco mutase.

II - Végétaux.

C'est en 1936 que pour la première fois on détecte la présence de la phosphohexose isomérase chez les végétaux : TANKO (162) en effet, dans la farine de pois, découvre cette enzyme. Ses travaux sont confirmés en 1945 par ceux de SOMERS et COSBY (158) sur la farine de pois et les extraits de plantes (159).

Plus tard, en 1954, KATZNELSON et ZAGALLO (96) étudient le métabolisme des Rhizobium et constatent la présence de P.H.I. dans Rhizobium meliloti, Léguminosarum et Phascoli.

En 1955, EDELMAN, GINSBURG et HASSID (67) dans les graines de blé mettent en évidence la phosphohexose isomérase.

Dans les extraits de cellules de racines de pois de 12 - 15 jours, GIBBS, EARL et RICHTIE (76) signalent une activité P.H.I.

Enfin, en 1961, VARDANIS et HOCHESTER (171) étudiant le mécanisme du métabolisme du glucose dans les tumeurs de plantes, découvrent dans ces tumeurs une activité phosphohexose isomérasique.

III - Animaux.

1°/ INVERTEBRES

a) Arthropodes :

Insectes : FAULKNER (68) signale dans le sang du ver à soie une présence de P.H.I. mais en quantité insuffisante pour être dosée. De même CHEFURKA (50) dans les homogénats de mouche domestique et CANDY et KILBY (48) chez la sauterelle migratrice.

b) Mollusques :

Gastéropodes : chez Helix pomatia L, BALLADE, BASTIDE et DASTUGUE (9) étudient la répartition de la phosphohexose isomérase dans le surnageant d'homogénat d'hépatopancréas, dans des dilutions du suc digestif, dans le surnageant d'homogénat de l'animal privé de son tractus digestif et enfin dans l'hémolymph. Ils expriment leurs résultats comme dans notre partie expérimentale et obtiennent pour une incubation de 15 minutes à + 37° C : 7,5 p. cent de substrat isomérisé pour un homogénat d'hépatopancréas au 1/2000, 6,6 p. cent de substrat isomérisé pour une dilution au 1/50 du suc digestif, 7,6 p. cent pour l'hémolymph diluée au 1/20 et 12,8 p. cent pour un homogénat au 1/480 d'animal privé de son tractus digestif. Ils obtiennent une courbe d'allure générale similaire à celle que nous obtenons pour l'activité P.H.I. de nos différents organes,

c'est-à-dire une courbe ascendante puis, une fois arrivé à l'équilibre de la réaction, à un plateau. Ils concluent en constatant en premier lieu une prédominance générale de l'hépatopancréas quant à l'intensité de l'action diastasique, le muscle pédieux venant en deuxième position, l'hémolympe présentant la plus faible activité P.H.I.. tandis-que le suc digestif se classe entre cette dernière et le muscle pédieux.

Lamellibranches : KARPIAK (95) signale une présence de la P.H.I. dans les muscles de moules d'eau douce.

Echinodermes : KRAHL, KELTCH, WALTERS et CLOWES (101) découvrent dans le surnageant d'homogénats d'oeufs d'oursin, une activité phosphogluco isomérasique.

2°/ VERTEBRES

a) Poissons.

MARTIN et TARR (112) opèrent sur des extraits aqueux de muscle de morue, saturés avec du sulfate d'ammonium. La fraction protéinique résultant est dialysée pour fournir une préparation brute donnant une activité phosphogluco isomérasique marquée. Par chauffage à + 55° C et par lyophilisation, ils obtiennent une fraction protéinique soluble qui, chromatographiée, donne une fraction P.H.I. possédant les mêmes propriétés que la phosphohexose isomérase obtenue avec des sources différentes.

YCAS (194) obtient une activité P.H.I. avec des homogénats d'oeufs de Strongly locentrotus purpuratus et Lytechninus pictus.

b) Batraciens.

KURATA, MAEDA, IWATA et MISUKAMI (102) détectent une activité P.H.I. dans tous les stades du développement de Bufo vulgaris formosus, cette activité étant maximum au dernier stade de la phase gastrula.

c) Oiseaux.

RINAUDO (138) et BOT, KOVACS, ANDRASSY et POLYIK ont déterminé l'activité phosphohexose isomérase durant la vie embryonnaire du poulet. Pour le premier auteur, l'activité P.H.I. du foie d'embryon de poulet est supérieure à celle du foie de poulet.

Pour BOT, KOVACS, ANDRASSY et POLYIK, le muscle squelettique présente durant la vie embryonnaire une haute activité P.H.I.

DASTUGUE, BASTIDE et CHEVALIER (58) ont étudié l'activité P.H.I. du plasma et des hématies de poulet et de canard en fonction de la dilution. Ils ont opéré

à + 37°C et avec une incubation de 30 mn. Leurs résultats sont exprimés en pourcentage de substrat isomérisé, comme dans nos recherches expérimentales.

Pour les hématies, ils ont obtenu les résultats suivants sur 10 expériences :

Dilutions :	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/150	1/200
Poulet	14.2	17.1	19.8	22.9	25.7	20.9	16.6	10.1
Canard	12.4	15.6	19	22.1	25.1	16.6	13.8	9.1

Pour le plasma :

Dilutions :	1/2	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/150
Poulet	52.8	45.4	35.6	28.4	22	19.2	8.4	8.8
Canard	36.8	28.8	24.6	18.8	15	11.6	13.8	5

d) Mammifères.

Chez le Rat LIPSETT, REISBERG et BODANSKY (104) ont mis en évidence la présence de P.H.I. dans différents tissus.

CRAINE et HANSEN (54) ont découvert l'activité P.H.I. dans la glande mammaire de la rate en lactation.

WEBER, BANERJEE et ASHMORE (178) ont étudié la P.H.I. du foie et du tissu adipeux de rat. L'activité de cette enzyme dans le foie étant 3,5 fois supérieure à celle du tissu adipeux. BODANSKY (26) a étudié et chiffré l'activité P.H.I. du sérum de rat adulte : en prenant comme substrat le F-6-P ou le G-6-P il obtient les résultats suivants en partant d'une concentration de substrat, dans la mixture de réaction, égale à 0,002 M.

F-6-P.	G-6-P
µg de Fructose disparaissant par ml et mn	µg de Fructose formé par ml et mn
3,45	5,25

d'après BODANSKY (26)

BRUNS et NEUHAUS (44) ont déterminé chez la Souris saine l'activité P.H.I. du sérum sanguin et du foie. Ayant opéré sur 30 souris, ils obtiennent une activité P.H.I. dans le foie 17 fois supérieure à celle du sérum.

BRUNS et HINSBERG (42) trouvent sensiblement, dans le sérum de Souris, les mêmes valeurs que les auteurs précédents, soit une activité P.H.I. de 1830 si on l'exprime en mm³ de F-6-P / heure / ml de sérum.

LIPSETT, REISBERG et BODANSKY (104) ont

mis en évidence l'activité P.H.I. du tissu de foie de Lapin.

KELLERMAN (97) a déterminé l'activité P.H.I. des vésicules séminales de Cobaye.

BODANSKY (26) a étudié la P.H.I. du sérum de Chien adulte. En partant d'une concentration du substrat de 0,002 M et en utilisant 0,05 ml de sérum par ml de mixture de la réaction, il obtient les résultats suivants :

F-6-P		G-6-P
Fructose disparaissant par ml et mn en μ g		Fructose formé par ml et par mn en μ g
Chien 1	0,46	0,76
Chien 2	0,63	1

d'après BODANSKY (26)

Dans le même article BODANSKY publie ses résultats sur la P.H.I. du sérum de Chat. En les exprimant, de la même manière que précédemment, il trouve des valeurs beaucoup plus élevées que pour le Chien :

Chat 1	:	3,05	-	4
Chat 2	:	11	-	15,6

BALLADE, OGIER, FRAUX, BASTIDE et DASTUGUE (10) ont étudié l'activité P.H.I. du thymus lyophilisé d'Agneau. Ils expriment leurs résultats en pourcentage de substrat métabolisé, comme nous le faisons dans notre partie expérimentale. C'est ainsi que pour une dilution de 1/5000 et une durée d'incubation de 15 mn, ils obtiennent 5 p. cent de substrat métabolisé.

DASTUGUE, THIEBLOT, BASTIDE, BOYER et BLAISE (64) ont étudié l'activité P.H.I. des homogénats

d'épiphyse de Mouton. C'est ainsi qu'en 5 mn d'incubation et avec une dilution de 1/1000, ils ont obtenu 13 p. 100 de substrat métabolisé. BRUNS et HINSBERG (42) ont trouvé une activité P.H.I. du sérum de Mouton comprise entre 1008 - 1648. Cette activité étant exprimée en mm³ de F-6-P/ml de sérum.

DASTUGUE, BASTIDE et CHEVALIER (58) ont déterminé l'activité P.H.I. du plasma et des hématies de Cheval. Leurs résultats sont la moyenne de 10 expériences et sont exprimés en pourcentage de substrat métabolisé. Temps d'incubation : 30 mn. Ils obtiennent les résultats suivants :

Hématies

1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/150	1/200
19.5	21.9	23.8	25.9	31.2	23	18.1	11.9

Plasma

1/2	1/5	1/10	1/20
18,6	13,2	9	6

BRUNS et HINSBERG (42) ont déterminé sur 15 essais, la valeur de la P.H.I. du sérum du cheval. Cette valeur varie de 450 à 528 . Il est difficile d'établir une comparaison entre les deux résultats les méthodes de dosage étant différentes ainsi que les réactifs et les unités.

DASTUGUE, BALLADE et BASTIDE (57) ont étudié l'activité phosphohexose isomérasique de la rétine chez les Bovidés. Ils opéraient avec des yeux d'animaux de 6 mois, 2 ans et 10 ans. Leurs résultats, exprimés en pourcentage de substrat métabolisé, sont les suivants en 15 mn d'incubation :

Surnageants d'homogénats dilués de la rétine	Age	Nombre d'yeux par expérience	Expérience	Activité P.H.I.
1/10.000	6 mois	8 - 10	10	8,8
	2 ans	8 - 10	8	8
	10 ans	4 - 6	7	11,1

De même JONADET, DASTUGUE et BASTIDE (93) trouvent, dans la cornée de Bovidés, une activité P.H.I. considérable ne changeant pas avec l'âge. C'est ainsi qu'en 30 minutes d'incubation, ils obtiennent au 1/500, 12 p. cent de substrat isomérisé, leurs résultats portant sur 24 expériences.

BAICH, WOLFE et REITHEL (70) ont isolé, par chromatographie et électrophorèse, la P.H.I. des protéines de la glande mammaire de bovin.

BRUNS et HINSBERG (42) en exprimant toujours leur activité P.H.I. en mm³ de F-6-P/ml de sérum ont trouvé une valeur P.H.I. du sérum de Boeuf de 1150.

SLESINGER et TOVAREK (157) ont fait une étude sur l'activité P.H.I. de l'éjaculat de 22 taureaux. Cette activité P.H.I. n'est pas affectée par l'âge des différents taureaux.

° ° °

°

En résumé, nous avons essayé de comparer les diverses activités P.H.I. des organes, tissus, humeurs, rencontrées dans nos recherches bibliographiques. Mais comme nous l'avons indiqué à plusieurs reprises dans le texte, les comparaisons restent difficiles, compte tenu de la diversité des unités. Sous cette réserve, il semble se dégager de cet inventaire les conclusions suivantes :

a) En ce qui concerne les espèces : de façon générale, l'activité va en décroissant des mammifères aux vertébrés, aux végétaux et aux microorganismes, ainsi que le soulignent PEREZ-GEIJO et ALVARADO (128).

b) En ce qui concerne les organes, muscle, foie, intestin, coeur, poumons, reins, cerveau, l'activité semble bien parallèle à celle du métabolisme glucidique. C'est ainsi que le muscle a de loin l'activité P.H.I. la plus considérable, tandis que l'intestin présente une activité beaucoup plus faible.

c) Il convient enfin de souligner que ces recherches, si nombreuses soient-elles, sont très incomplètes et exigent encore un très gros travail pour qu'on puisse se faire une idée plus précise de la répartition globale de cette enzyme. En particulier, dans les cas que nous allons reprendre personnellement dans notre partie expérimentale, nous notons le très petit nombre de références en ce qui concerne les Batraciens et l'absence totale pour ce qui est de Vipera aspis et Testudo graeca.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES

INTRODUCTION : METHODOLOGIE

Le processus opératoire a déjà été développé dans la partie bibliographique (p.24). Nous n'ajoutons ici qu'un complément relatif à l'influence de la température sur la conservation de l'activité enzymatique de nos homogénats d'organes ainsi qu'à l'influence de la dilution.

I - INFLUENCE DE LA CONGELATION

Nous avons étudié personnellement, ainsi que nous l'avons déjà signalé (p. 9) dans des propriétés générales de l'enzyme, l'influence de la congélation à -25°C sur l'activité P.H.I. d'un homogénat de muscle gastrocnémien de Rana esculenta. Comme pour tous nos broyats, nous avons utilisé l'appareil " Ultraturrax " et nous avons réalisé nos différentes dilutions à partir du surnageant de l'homogénat, obtenu après une centrifugation de 15 minutes à 4000 tours/minute. Nous avons condensé nos résultats dans le tableau 1. Ainsi que nous nous en rendons compte à la lecture de ce tableau, nous constatons une baisse considérable de l'activité P.H.I. en fonction du temps pendant lequel l'homogénat avait été maintenu à la température de -25°C .

On en déduit qu'il est nécessaire de travailler sur un homogénat dont le temps de conservation aura été réduit au maximum. En ce qui concerne nos propres expériences, nous n'avons pas dépassé quelques heures à $+4^{\circ}\text{C}$.

INFLUENCE DE LA CONGELATION SUR L'ACTIVITE
PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DU GASTROCNEMIEN
DE RANA ESCULENTA

TABLEAU 1

1 - Homogénat frais

Dilution :	1/10000	1/20000
15 mn	15,8 %	10,2 %
5 mn	12,1 %	8,5 %

2 - Homogénat conservé
à - 25° C 48 heures.

Dilution :	1/10000	1/20000
15 mn	10 %	6,5 %
5 mn	6 %	4,5 %

3 - Homogénat conservé
à - 25° C 96 heures.

Dilution :	1/10000	1/20000
15 mn	2,5 %	3 %
5 mn	3 %	2 %

Nos résultats portent sur 3 séries d'essais.

II - INFLUENCE DE LA DILUTION

DASTUGUE, BASTIDE et CHEVALIER (57) ont constaté, en étudiant l'activité P.H.I. en fonction de la dilution des homogénats de globules rouges, que cette activité semble passer par un maximum pour une dilution au 1/50, ainsi que nous l'avons énoncé dans les propriétés de l'enzyme (p. 11), puis diminue ensuite. Dans nos résultats, ainsi que le montrent les tableaux 2, 3, 4 et 5, nous obtenons des résultats sensiblement analogues.

a) Dans tous les cas en effet, il nous faut atteindre une dilution de 1/100 pour obtenir une baisse d'activité. Lorsqu'il s'agit d'homogénats d'organes très riches en P.H.I., le tissu musculaire, par exemple, de Rana esculenta, il nous faut au moins une dilution de 1/1000.

b) Le phénomène est surtout accentué pour le tissu musculaire que ce soit chez Rana esculenta, Vipera aspis ou Cavia cobaya. L'espèce où ce phénomène se manifeste cependant le mieux paraît être Rana esculenta, ainsi que le montrent les tableaux 2 et 3.

De façon générale, plus le métabolisme glucidique d'un organe semble être élevé, plus son activité P.H.I. est grande et donc dans ce cas ce phénomène est très accentué. Même en dehors des organes, nous constatons le même phénomène chez les hématies, ainsi que le montre le tableau 6.

c) Ce phénomène n'est pas sans poser un certain nombre de problèmes quant à son interprétation. D'après DASTUGUE, BASTIDE et CHEVALIER (58), deux hypothèses peuvent être formulées, la cause en étant ou bien une fixation différente de l'enzyme à l'intérieur de la cellule, ou bien la présence d'un inhibiteur. Cependant, aucune des expériences mises en jeu pour étayer l'une ou l'autre de ces hypothèses, ne s'est montrée probante, d'autres recherches seront nécessaires pour fournir une explication valable.

Mais il entraîne également un certain nombre de conclusions pratiques quant à l'appréciation de l'activité de l'enzyme et notamment de la comparaison des richesses respectives d'un tissu à l'autre, tout particulièrement si on voulait établir un rapport érythro-plasmatique des enzymes. Toutefois, dans le cas particulier de la P.H.I., étant donné qu'il s'agit d'une réaction d'équilibre, comme nous l'avons indiqué déjà à plusieurs reprises, et que la limite supérieure de la marge de prospection de l'activité enzymatique ne doit pas dépasser 30 p. cent, on peut penser que c'est là l'explication du phénomène.

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
DIFFERENTS ORGANES DE RANA ESCULENTA SUIVANT
LES DILUTIONS

TABLEAU 2

1 - Gastrocnémien.

	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/5000	1/10000	1/15000	1/20000
15 mn	32	31	31	31	24	20	15	12
5 mn	31	31	31	31	19.5	10.5	8	7

2 - Foie.

	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/5000	1/10000	1/15000	1/20000
15 mn	32	32	30	30	14	6	0	0
5 mn	32	32	30	30	8	4	0	0

3 - Intestin.

	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/15000
15 mn	32	32	23	14	7	0	0	0
5 mn	31	31	19	10	4.5	0	0	0

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
DIFFERENTS ORGANES DE RANA ESCULENTA SUIVANT
LES DILUTIONS

TABLEAU 3

4 - Coeur.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/5000	1/10000	1/15000	1/20000
15 mn	30	30	30	30	14	9	0	0
5 mn	30	30	30	27	11	7	0	0

5 - Poumons.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/15000
15 mn	31	30	23	20	10	6	0	0
5 mn	30	27	18	16	7	4	0	0

6 - Reins.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/15000
15 mn	32	30	24	20	11	8	4	0
5 mn	32	29	18	17	7	5	3	0

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
DIFFERENTS ORGANES DE VIPERA ASPIS SUIVANT
LES DILUTIONS

TABLEAU 4

1 - Poumons.

	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000
15 mn	28,5	21	14	9	4	3
5 mn	27,5	15	10,5	6,5	4	3

2 - Coeur.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000
15 mn	29	29	25	18	10,7	6	3,5
5 mn	25,5	24	19	12,5	7	4	2

3 - Foie.

	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000
15 mn	29	28	26	20	15,5	8	6	4
5 mn	28	27	22	17	12	6	4	2

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
DIFFERENTS ORGANES DE VIPERA ASPIS SUIVANT
LES DILUTIONS

TABLEAU 5

4 - Intestin.

	1/10	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000
15 mn	28	28	28,5	28	19	14,5	8,1	3	0
5 mn	28	28	27,5	24	16	9,3	5,3	1	0

5 - Reins.

	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000
15 mn	27	26	23	20	12,5	11	9,5
5mn	27	25	20	18	10	8	5

6 - Muscle dorsal .

	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000	1/30000
15 mn	28	28,5	31	27	24	15	10	4	3
5 mn	28	28,5	27	24	18,5	13	9	4	2

ACTIVITES P.H.I. DES HEMATIES DE VIPERA ASPIS
CAVIA COBAYA et TESTUDO GRAECA
SUIVANT LA DILUTION EN 15 mn. d'INCUBATION

TABLEAU 6

Espèces	1/10	1/30	1/40	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
Vipera aspis.	28	28,6	28,6	29,6	30	27	24,4	18,6	12,7	7,2
Testudo graeca	29			30,4	27,7	23,5	17,5	11	7	1,7
Cavia cobaya	31,9	31	30,1	29,7	29,6	28,6	26,5	18,2	10,7	6,2

CHAPITRE PREMIER

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE CHEZ RANA ESCULENTA

I - OBTENTION DES PREPARATIONS EXZYMATIQUES.

Nous avons utilisé des Rana esculenta de sexe mâle d'un poids moyen environ de 60 grammes. Nous avons prélevé les différents organes chez des grenouilles récoltées au moment de l'accouplement. Les grenouilles étant assomées, nous préparions de suite les homogénats d'organes et dans la même journée dosions l'activité phosphohexose isomérasique. Nous avons toujours déterminé cette activité sur des homogénats frais. La congélation à $- 25^{\circ}\text{C}$ diminuant considérablement l'activité P.H.I. comme nous l'avons mis nous-mêmes en évidence et comme nous l'avons rappelé dans les propriétés générales de l'enzyme.

Malgré toutes les précautions prises, en travaillant avec un matériel hépariné, et en essayant de prélever le sang à différents niveaux, en particulier par ponction cardiaque, il nous a été impossible de prélever des quantités suffisantes de sang. De ce fait, nous n'avons pu mesurer de façon rigoureuse l'activité P.H.I. du sérum et des hématies, bien que le nombre d'animaux sur lesquels nous avons travaillé, s'élèvent à environ une soixantaine.

Les différents organes prélevés, muscle gastrocnémien, foie, intestin, coeur, poumons, reins, nous faisons rapidement une dilution au 1/10 : 1 gramme d'organe pour 9 ml d'eau distillée. Le broyat terminé (nous avons opéré avec un appareil Ultra-turrax en maintenant le tube contenant organes et eau distillée dans de la glace) nous le centrifugions à 4.000 tours/minute pendant 15 minutes, conformément à la technique de BODANSKY (27), BASTIDE, BAUDON, MEUNIER, DASTUGUE (17). Nous prélevons

le surnageant et à partir de ce dernier, réalisons nos différentes dilutions: 1/10 - 1/100 - 1/500 - 1/1000 - 1/2000 - 1/5000 - 1/10000 - 1/15000 - 1/20000.

Nous dosions alors la phosphohexose isomérase suivant la technique décrite page 24 .

De ces différentes solutions, nous en retenions deux qui étaient celles pour lesquelles nous avions un pourcentage de substrat métabolisé au moins égal ou inférieur à 20. Nous avons donc opéré sur des préparations les plus diluées possibles, de manière à nous trouver en présence de faibles quantités d'enzyme, par rapport au substrat qui sont les conditions pour lesquelles l'activité enzymatique est habituellement la meilleure, et la vitesse de réaction sensiblement proportionnelle à la quantité de ferment mis en oeuvre. Enfin, nous avons toujours opéré en 5 et 15 minutes d'incubation.

II - EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats sont exprimés en pourcentage de substrat scindé pendant la durée d'incubation.

Sur les différents tableaux sont portés les moyennes arithmétiques des essais effectués pour chaque dilution et les écarts standards σ calculés d'après la formule suivante :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}}$$

$\sum$ = somme.

d = différence entre le résultat de chaque essai et la moyenne arithmétique des résultats pour n expériences.
 n = nombre d'expériences.

Nos séries de dosages ont porté pour Rana esculenta sur 5 séries d'essais.

Compte tenu de toutes ces données, nous avons condensé les résultats obtenus dans les 6 tableaux suivants.

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS D ORGANES DE RANA ESCULENTA

TABLEAU 7

1 - Gastrocnémien.

N°	15 mn		5 mn	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	15	9	10,5	7
2	22	9	16	13
3	16	12,5	12	7,5
4	11	10	8	7
5	15	10,5	14	8
Moyennes	15,8	10,2	12,1	8,5
σ	3,9	1,4	3,1	2,5

2 - Coeur.

TABLEAU 8.

N°	15 mn		5 mn	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	15	10	10	5
2	15,5	10	8,5	4,5
3	16,5	11	12	8
4	13	6,5	10	5,5
5	14	9	10	7
Moyennes	14,8	9,3	10,1	6,0
σ	1,3	1,7	1,2	1,4

TABLEAU 93 - Foie.

N°	15 mn		5 mn	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	10	5,5	6	4
2	8,5	6	4,5	4
3	11	6,5	8,5	4,5
4	6	4	4	3,5
5	14	6,5	8	5
Moyennes	9,9	5,7	6,2	4,2
σ	3,9	1	2,1	0,5

TABLEAU 104 - Reins.

N°	15 mn.		5 mn.	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	7,5	3	5	4
2	6,5	4	4	3
3	6,5	4	4	2
4	7	5	5,5	3
5	8	5	4	3,5
Moyennes	7,1	4,2	4,5	3,1
σ	0,6	0,8	0,8	0,7

TABLEAU 11

5 - Poumons.

N°	15 mn		5 mn	
	1/2000	1/5000	1/2000	1/5000
1	10	6	6	3,5
2	6	2	3,5	1,5
3	10	4	6	3,5
4	11	6	7	5
5	10	6	7,5	4
Moyennes	9,4	4,8	6,0	3,5
σ	1,9	1,7	1,5	1,2

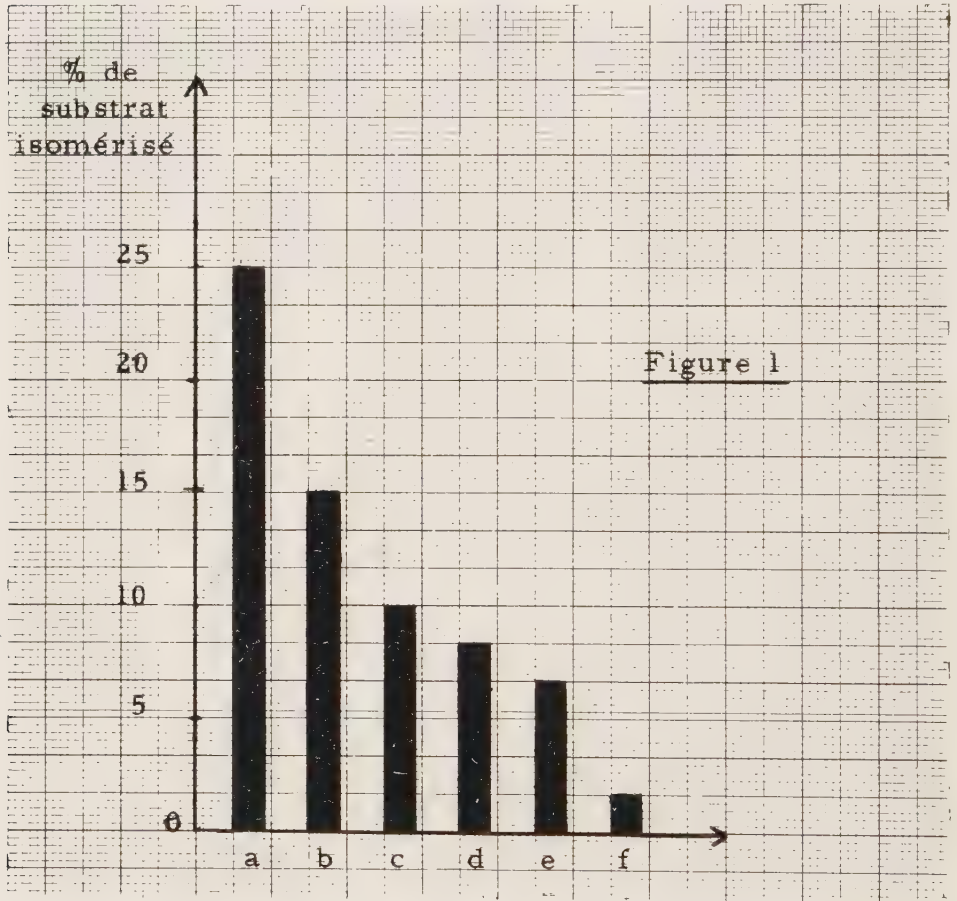
TABLEAU 12

6 - Intestin.

N°	15 mn		5 mn	
	1/1000	1/2000	1/1000	1/2000
1	12,5	6	10	4
2	13	5	8	4,5
3	14	6	10	3,5
4	12	5,5	10	3
5	11	7,5	6	5
Moyennes	12,5	6,0	8,8	4,0
σ	0,7	0,9	1,7	0,8

III - RESULTATS

Pour avoir une vue comparative de l'activité des différentes préparations étudiées, nous avons transposé dans la figure I, les résultats obtenus, ramenés à une dilution de 1/5000, après 15 mn. d'incubation.



a : Gastrocnémien - b : Coeur - c : Foie - d : Reins -
e : Poumons - f : Intestin.

D'après cette figure, on se rend compte de suite, que dans un ordre d'activité décroissante nous avons : gastrocnémien, coeur, foie, reins, poumons et intestin. Le muscle ayant de loin la plus forte activité P.H.I., tandis-que à 1/5000 l'intestin n'a pratiquement aucune activité P.H.I., ce qui semble bien correspondre aux intensités de métabolisme glucidique respectives des différents tissus.

CHAPITRE II

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE CHEZ VIPERA ASPIS

II - OBTENTION DES PREPARATIONS ENZYMATIQUES.

Nous avons utilisé des Vipera aspis de sexe femelle qui au moment de notre expérimentation portaient leurs oeufs. De même que pour Rana esculenta, les organes ont été prélevés de suite après la mort de l'animal obtenue dans ce cas par section, au moyen d'un ciseau, de la tête. Le sang d'autre part n'étant recueilli sur aucun anticoagulant. En effet, la coagulation du sang chez la vipère présente un certain nombre de particularités que DASTUGUE rappelle dans son mémoire de 1941 (56) et qui avaient été signalées par ARGAUD et BILLARD dès 1911 : le sang de vipère recueilli sans mélange appréciable avec du " suc de tissu " coagule en effet avec la plus grande difficulté et le caillot, lorsqu'il commence à se former, seulement au bout de quelques heures, est pratiquement irrétractile. Cette irrétractilité du caillot signalée également pour le sang de certains animaux à hématies nucléées est à mettre en parallèle avec l'absence de plaquettes sanguines, constatation signalée en 1941 par Mme JOY et G. DASTUGUE (63).

Les broyats d'organes sont réalisés comme pour Rana esculenta.

On sépare hématies et plasma en centrifugeant le sang cinq minutes à 1000 tours/minute.

Nous avons également réalisé lors de chaque dosage un hématocrite.

De la même manière que chez Rana esculenta, nous

nous sommes efforcés d'opérer à grande dilution pour les homogénats d'organes.

Quant aux hématies et au plasma, nous avons préféré utiliser une gamme plus étendue de dilutions : $1/10$ - $1/20$ - $1/40$ - $1/50$ - $1/100$ - $1/200$ - $1/500$ - $1/1000$ - $1/2000$ - $1/5000$ pour les hémolysats d'hématies.
 $1/10$ - $1/20$ - $1/40$ pour le plasma.

Les hématies sont lavées avec du sérum physiologique et hémolysées à l'aide d'eau distillée (agitation vigoureuse pendant 10 minutes).

Nous avons exprimé nos résultats comme pour Rana esculenta.

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS D'ORGANES DE VIPERA ASPIS

TABLEAU 13

1 - Muscle dorsal.

N°	15 mn		5 mn	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	15	10	13	9
2	18	14	9	5
3	16	9	7	4
4	14	8	11	6
5	20	13	10	8
Moyennes	16,6	10,8	10,0	6,4
σ	2,4	2,6	2,2	2,1

2 - Reins.

TABLEAU 14

N°	15 mn		5 mn	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	12	8	10,5	6
2	11,5	9,5	9,5	8
3	14	10	8	5
4	15	12	9	5,5
5	16	8	11	7
Moyennes	13,7	9,5	9,6	6,3
σ	1,9	1,6	1,2	1,2

TABLEAU 153 - Foie.

N°	15 mn		5 mn	
	1/2000	1/5000	1/2000	1/5000
1	18	9,5	10	4
2	15,5	8	12	6
3	16	10	9	3
4	19	7	7	2
5	20	11	11	5
Moyennes σ	18,7 2,2	9,1 1,6	9,8 1,9	4,0 1,5

TABLEAU 164 - Coeur.

N°	15 mn		5 mn	
	1/1000	1/2000	1/1000	1/2000
1	24	20	17,5	10,5
2	22	18	12,5	7
3	25	16	14	8
4	26	19	15	10
5	20	21	12	6
Moyennes σ	23,4 2,4	18,8 1,9	14,2 2,2	8,3 4,9

TABLEAU 17

5 - Poumons.

N°	15 mn		5 mn	
	1/1000	1/2000	1/1000	1/2000
1	17,5	10	9	5
2	14	9	10,5	6,5
3	13	9	7	4,5
4	12	7,5	6	3
5	16	6	8	5
Moyennes	14,5	8,1	8,1	4,8
σ	2,7	1,6	1,7	1,2

TABLEAU 18

6 - Intestin.

N°	15 mn		5 mn	
	1/1000	1/2000	1/1000	1/2000
1	14	9	11	7
2	15	9	11	6,5
3	13	8	9	5,5
4	10	7	8	4
5	11	6,5	7,5	3,5
Moyennes	12,6	7,9	9,3	5,3
σ	2,1	1,1	4,8	1,7

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS DE PLASMA DE VIPERA ASPES

TABLEAU 19

N°	15 mn.		
	1/10	1/20	1/40
1	7	3	1
2	8	4	1,5
3	6,5	3,5	1
4	9	5,5	2
5	7,5	3,5	2
Moyennes	7,4	3,9	1,5
σ	0,9	0,9	0,5

N°	5 mn.		
	1/10	1/20	1/40
1	5	1,5	0,5
2	4,5	1	0
3	3,5	1	0,5
4	5	2	1
5	4	2	1
Moyennes	4,4	1,5	0,6
σ	0,6	0,5	0,4

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS D'HEMATIES DE VIPERA ASPIS

TABLEAU 20

N°	5 mn.									
	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
1	28	28	29	30	27	21	19	13	9	5
2	28	29	29	29	28	23	20	14,5	10	4,5
3	28	28	28	30	26	20	17	12	9,5	4
4	28	29	28	29	27,5	24	18	16	8	6
5	28	28	29	30	26	22	20	15	8,5	3,5
Moy σ	28 0	28,4 0,6	28,6 0,5	29,6 0,7	26,9 0,9	22,0 1,8	18,8 1,3	14,1 1,5	9,0 0,8	4,6 0,9

TABLEAU 21

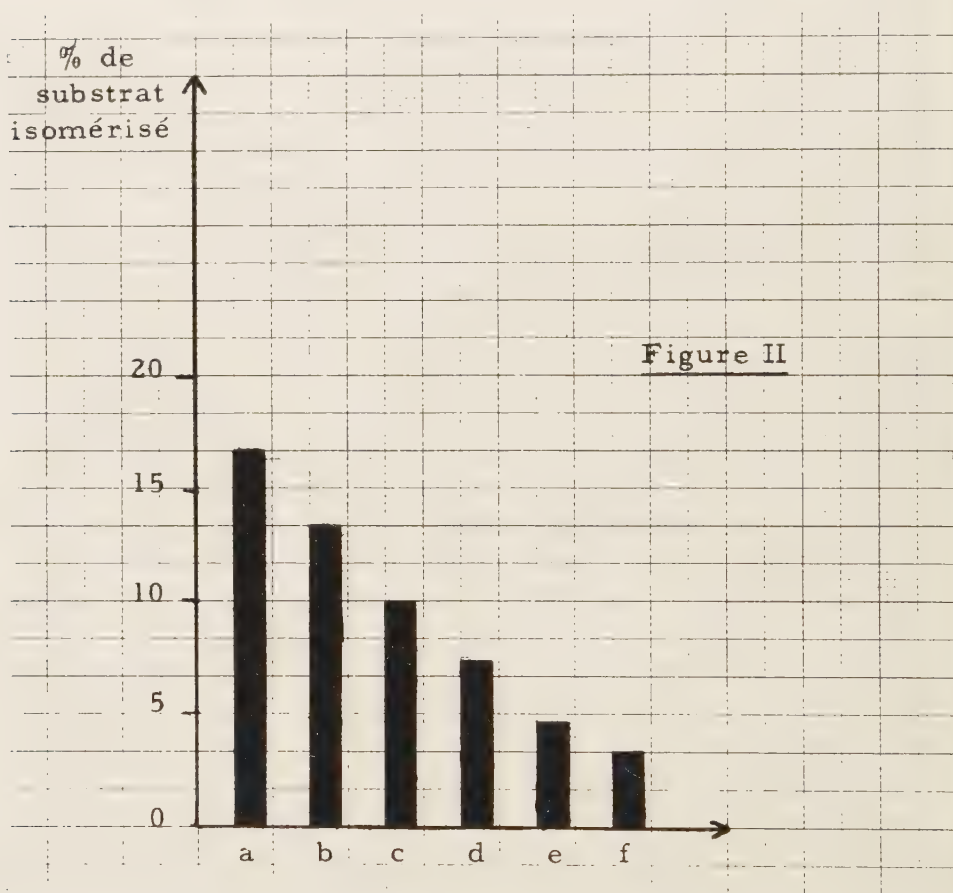
N°	15 mn.									
	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
1	28	29	29	30	31	28	25,5	21,5	15	7
2	28	28	28	29	30	27,5	25	18,5	13,5	7,5
3	28	29	29	30	29	26,5	23	17	12,5	7
4	28	28	28	29	30	25,5	24	19,5	14	8
5	28	29	29	30	29,5	28	24,5	16,5	11,5	6,5
Moy σ	28,0 0,0	28,6 0,5	28,6 0,5	29,6 0,5	30,0 0,7	27,0 1,2	24,4 0,9	18,6 1,9	12,7 1,6	7,2 0,5

Hématocrites : 25 - 23 - 24 - 27 - 24.

Moyenne : 24,6

II - RESULTATS

Pour avoir une vue comparative de l'activité des différentes préparations étudiées, nous avons transposé dans la figure II les résultats obtenus, ramenés à une dilution de 1/5000, après 15 mn. d'incubation.



a : Muscle dorsal - b : Reins - c : Foie - d : Coeur -
e : Poumons - f : Intestin.

D'après cette figure, on se rend compte que, dans un ordre d'activité décroissante, nous avons : muscle dorsal, reins, foie, coeur, poumons et intestin.

Quant au sang, les hématies possèdent une activité P.H.I. considérable : à 1/5000, en 15 mn. d'incubation, 7,2 p. cent du substrat est isomérisé.

Le plasma par contre a une activité phosphohexose isomérasique très faible, compte tenu de la dilution : à 1/20 en 15 minutes d'incubation 3,9 p. cent.

CHAPITRE III

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE
CHEZ CAVIA COBAYAI - OBTENTION DES PREPARATIONS ENZYMATIQUES

Nous avons utilisé des cobayes, de sexe mâle, d'un poids moyen de 250 grammes. Les cobayes étaient sacrifiés au moyen d'un tampon de chloroforme. Comme pour Vipera aspis et Rana esculenta, les homogénats d'organes étaient réalisés de suite et la phosphohexose isomérase dosée dans la journée.

Nous prélevons le sang, au moyen d'une seringue héparinée, dans la veine jugulaire. Le sang est alors recueilli sur héparine sèche : 1 mg d'héparine lyophilisée pour 10 ml de sang.

Nous avons séparé plasma et hématies par centrifugation 5 minutes à 1000 tours/minute.

Les hématies sont lavées avec du sérum physiologique et hémolysées avec de l'eau distillée (agitation vigoureuse) durant 10 minutes.

En exprimant nos résultats comme pour Vipera aspis et Rana esculenta, nous les avons condensés dans les 15 tableaux suivants.

Nos moyennes ont porté sur 10 séries d'essais.

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS D'ORGANES DE CAVIA COBAYA

TABLEAU 22

1 - Muscle.

N°	15 mn.		5 mn.	
	1/5000	1/10000	1/5000	1/10000
1	14	8	9	5
2	19,5	8	12,5	11
3	13	10	11	7,5
4	18	9	12	6
5	20	11	13	7
6	21	8,5	11,5	5,5
7	17	9,5	10,5	8
8	19	11,5	9,5	7,5
9	18,5	10,5	10	10
10	15	9	13	7,5
Moyennes	17,5	10,5	11,2	7,5
σ	2,7	1,6	1,4	1,8

TABLEAU 232 - Reins.

N°	15 mn		5 mn	
	1/1000	1/2000	1/1000	1/2000
1	19	14	14	11
2	28	17	13	13,5
3	21,5	19	19	18,5
4	26	18	10	12,5
5	21,5	17	18	15
6	23	15	17	18
7	20	16	23	10
8	21	20	16	11,5
9	24	15	17,5	12
10	21	16	18,5	13
Moyennes	22,5	16,7	16,6	13,5
σ	2,8	1,9	3,6	2,8

TABLEAU 24

3 - Foie.

N°	15 mn		5 mn	
	1/200	1/500	1/200	1/500
1	26,5	25	21	16,5
2	22,5	20	26	12,5
3	23	19	21	17,5
4	22	18	18,5	10,5
5	26	20,5	19	11
6	19,5	15,5	16	14
7	21	18,5	20	13,5
8	22	19,5	17	10,5
9	25	21	18	13
10	23,5	19	16,5	12
Moyennes	23,1	19,6	19,3	13,1
σ	2,2	2,4	2,9	2,3

TABLEAU 25

4 - Poumons.

N°	15 mn		5 mn	
	1/500	1/1000	1/500	1/1000
1	26	21	20	15
2	19,5	15	13	8
3	17	18	14	11
4	22,5	21,5	19	10
5	26,5	14	21	16,5
6	19,5	21	22	20
7	18	21	18	16
8	21	19,5	15	19,5
9	26	20	16	14
10	24,5	23	14	14
Moyennes σ	21,6 3,5	19,4 2,9	17,2 3,2	14,4 3,9

TABLEAU 26

5 - Coeur.

N°	15 mn.		5 mn.	
	1/500	1/1000	1/500	1/1000
1	26	24	21	17
2	19,5	17	16	11
3	25	20	14	14
4	21,5	19,5	20	11
5	18	16,5	21	17
6	22	15	19,5	13
7	23	18,5	17	15
8	24,5	20,5	16,5	12
9	22,5	19	15	11
10	24	21	18	12,5
Moyennes	22,6	19,1	17,8	13,3
σ	2,5	2,5	2,5	2,3

TABLEAU 27

6 - Cerveau.

N°	15 mn.		5 mn.	
	1/500	1/1000	1/500	1/1000
1	26	18	22	13
2	20	17	24, 5	19
3	25	16, 5	24, 5	12
4	21, 5	17, 5	23	14
5	19	18	20	11
6	22	19, 5	19	14, 5
7	24	20	21, 5	13
8	20, 5	16	18	12, 5
9	22, 5	15, 5	16	10, 5
10	23	18	17, 5	14
Moyennes	22, 3	17, 6	20, 0	13, 3
σ	2, 0	1, 4	3, 2	2, 3

TABLEAU 287 - Intestin.

N°	15 mn.		5 mn.	
	1/1000	1/2000	1/1000	1/2000
1	19	9	14	5,5
2	16	8	12	4
3	20	10	16	7
4	13	6	10	3
5	22	13	15	6,5
6	18	8,5	13	5
7	24	14	16	9
8	14	7	10,5	3,5
9	18	9	12	6
10	20	10	15	6
Moyennes	17,4	9,4	13,3	5,5
σ	3,5	0,9	0,7	1,8

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS DE PLASMA DE CAVIA COBAYA.

TABLEAU 29

N°	5 mn							
	1/2	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/150
1	30	27	22	13	9	6,5	4	1
2	32	28	25	17	11	8	3	1
3	31	29	24	15	10	7	4,5	0,5
4	30	28,5	23	16	9	7	4	1
5	30	29	22	14	11	6,5	3,5	1
Moy. σ	30,6 0,8	28,5 0,9	23,2 1,3	15,0 1,8	10,0 1,0	7,0 0,2	3,8 0,1	0,9 0,0

TABLEAU 30

N°	15 mn							
	1/2	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/150
1	30	32,5	28,5	20	15,5	11,5	7	2
2	32	30	27,5	24	17	15	6	3
3	31	31	28	22	16	13	5	2
4	30	32	29	22	18	12	4,5	3
5	31,5	31	28,5	24	16	12	5	2,5
Moy. σ	30,9 0,7	31,3 0,9	28,3 0,1	22,4 1,6	16,5 1,0	14,7 4,1	5,7 0,9	2,5 0,7

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS D'HEMATIES DE CAVIA COBAYA

TABEAU 31

N°	5 mn.											
	1/2	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
1	31	30	30	32,5	30	30	28,5	25	14	11	6	4,4
2	31	32	29,5	29	28,5	28	29	28	18	14	9	3
3	30	30	29	29,5	29	29	28,5	27	19	13	8,5	3
4	31	31	30	30	29,5	28,5	29	25,5	17	12	7,5	4
5	30	30,5	31	30	30	29	28	25	16	11,5	6,5	5
Moy. σ	30,6 0,1	30,7 0,9	29,9 0,7	30,2 1,3	29,4 0,6	28,9 0,7	28,6 0,3	26,1 1,4	16,8 1,9	12,3 1,2	7,5 1,2	3,9 0,9

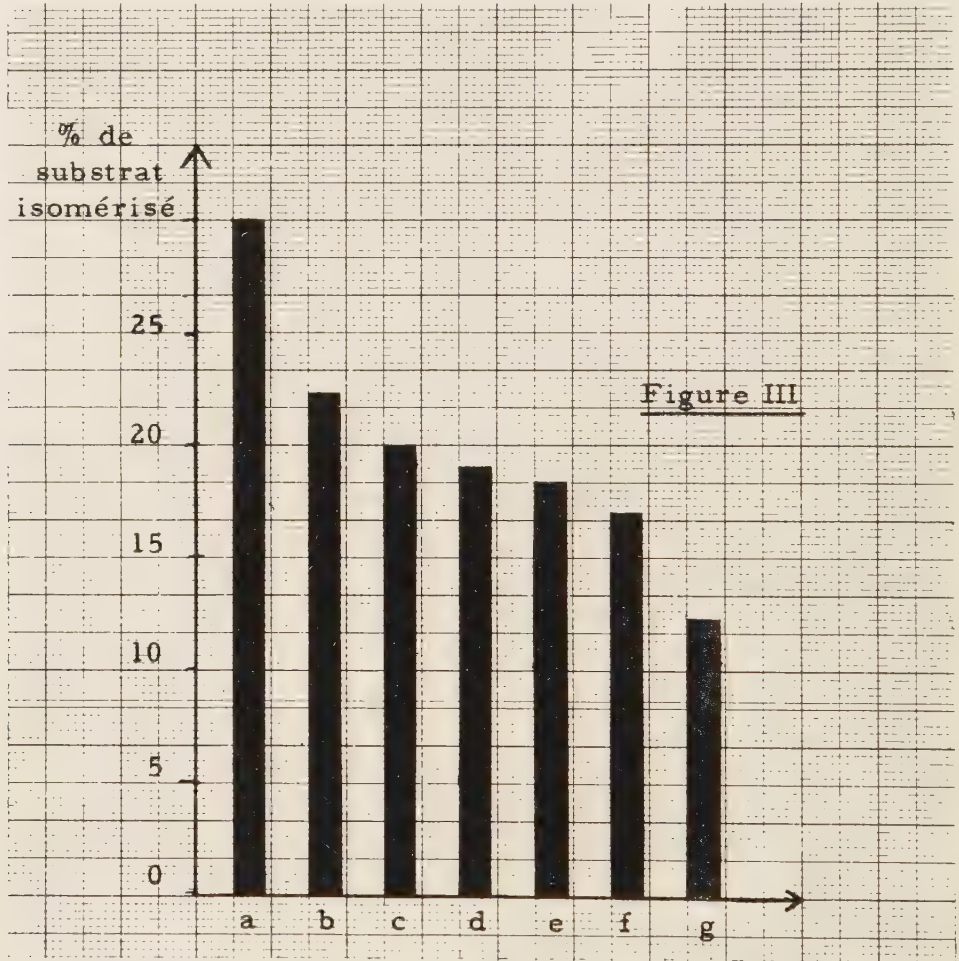
TABLEAU 32

N°	15 mn.											
	1/2	1/5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
1	32	30	30	32	30,5	29,5	28,5	27,5	21,5	16	10	5
2	32	32	29,5	30	29	30,5	30,5	30	24	17	11	6
3	31	31	30	31	30,5	30	30	28,5	22	18	12	7
4	32	31,5	30	31	30	28,5	29	29	21	19	9,5	5,5
5	32	31	30	31	30,5	30	30	28	24	21	10	7,5
Moy. σ	32,0 0,5	31,5 1,1	31,9 2,2	31,0 0,7	30,1 0,6	29,7 0,7	29,6 0,8	28,6 0,9	26,5 4,5	18,2 1,9	10,7 0,9	6,2 1,0

Hématocrites : 45 - 43 - 46 - 44 - 45.

II - RESULTATS

Pour avoir une vue comparative de l'activité des différents organes étudiés, nous avons transposé dans la figure III les résultats obtenus, ramenés à une dilution de 1/1000, après 15 mn. d'incubation.



a : Muscle de la cuisse - b : Reins - c : Poumons -
d : Coeur - e : Cerveau - f : Intestin - g : Foie.

D'après la figure III on peut facilement classer dans un ordre décroissant d'activité P.H.I. les organes étudiés. On obtient alors : muscle, reins, poumons, coeur, cerveau, intestin et foie. Poumons, coeur, cerveau ayant sensiblement une activité équivalente.

Pour les préparations d'hématies, nous avons, en 15 mn. d'incubation et au 1/5000, une activité de 6,2. Tandis-que pour le plasma, toujours en 15 mn. d'incubation, au 1/150 l'activité P.H.I. est de 0,7.

CHAPITRE IV

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE
DES PREPARATIONS D'HEMATIES ET DE PLASMA DE
TESTUDO GRAECA

Nous avons eu de grandes difficultés à prélever le sang de *Testudo graeca*. Après avoir essayé de le prélever au moyen d'une aiguille très fine dans le système veineux, nous avons été obligé de mettre le coeur à nu après avoir scié la carapace, puis de retourner l'animal, de sectionner le coeur et de recueillir ainsi quelques ml. de sang sur héparine lyophilisée. Nous procédions alors pour séparer plasma et hématies comme pour *Cavia cobaya*, par une centrifugation de 5 minutes à 1000 tours/minute.

Malheureusement notre expérimentation sur le plasma n'a porté que sur deux essais. Ces deux essais étant ceux où nous avons obtenu la plus faible hémolyse.

Nous avons rassemblé dans les trois tableaux suivants les résultats obtenus.

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS D'HEMATIES DE TESTUDO GRAECA.

TABLEAU 33

N°	15 mn							
	1/10	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
1	30	30	28,5	23	17,5	10,5	6,5	1
2	29	31	27	24	18	11	7	2
3	28	30	26	22	19	12	8,5	1,5
4	29,5	30	28	25	16	11,5	7	3
5	28,5	31	29	22,5	17	10	6	1
Moy.	29,0	30,4	27,7	23,5	17,5	11,0	7,0	1,7
σ	1,8	0,2	1,2	1,2	1,1	0,7	1,0	0,8

Hématocrites : 20 22 21 19 21

Moyenne : 20,6

TABLEAU 34

N°	5 mn.							
	1/10	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
1	29	29,5	24	20	15	8	4	1
2	30	30	22	19	13	9	5	1
3	27	28	25,5	21	15,5	7	3,5	0,5
4	29	27,5	21	22	14	7,5	4,5	1
5	30	27	20	16	12	6,5	4	2
Moy.	29,0	28,4	22,5	19,6	13,9	7,6	4,2	1,1
σ	1,2	1,3	2,2	2,3	1,4	0,8	0,5	0,5

ACTIVITE PHOSPHOHEXOSE ISOMERASIQUE DES
PREPARATIONS DE PLASMA DE TESTUDO GRAECA

TABEAU 35

N°	15 mn.					
	1/2	1/5	1/10	1/20	1/50	1/100
1	31	33	32	26	17,5	1
2	31	32,5	32	24	16	2
Moyennes	31,0	32,7	32	25	16,7	1,5

N°	5 mn.					
	1/2	1/5	1/10	1/20	1/50	1/100
1	31	32	25,5	18,5	8	1
2	31	32	23	17	7	0,5
Moyennes	31	32	24,2	17,7	7,5	0,7

En raison des difficultés rencontrées pour prélever le sang, nous n'avons pu éviter une légère hémolyse dans les préparations de plasma.

RESUME

ET CONCLUSIONS GENERALES

I - En ce qui concerne la partie bibliographique, nous relevons de façon générale que les activités P.H.I. s'alignent par ordre d'activité décroissante des mammifères aux vertébrés, aux végétaux et aux micro organismes.

II - En ce qui concerne la partie expérimentale les faits les plus saillants, semble t-il, à relever, sont les suivants :

1°/ Du point de vue de la préparation des milieux enzymatiques :

a) pour ce qui est de leur conservation, nous notons qu'une conservation à - 25° C diminue considérablement l'activité de l'enzyme, qui passe pour le gastrocnémien de Rana esculenta, par exemple, de 15,8 à 2,5 à une dilution de 1/10.000 et 15 mn. d'incubation, après 96 heures de conservation à - 25°C.

b) pour ce qui est de leur dilution, nous constatons que plus l'activité des organes ou des hématies est considérable, plus il nous faut une dilution élevée pour obtenir une baisse sensible de cette activité P.H.I., de telle sorte que, si on travaille avec une dilution de 1/10 ou 1/500, pour le gastrocnémien de Rana esculenta par exemple, l'activité reste sensiblement constante : 32 ou 31 p. cent de substrat isomérisé. Un essai d'interprétation a été fourni.

2°/ En ce qui concerne les espèces, nous constatons dans l'ensemble une activité P.H.I. plus importante chez Rana esculenta que chez Vipera aspis et Cavia cobaya. Nous pouvons constater, d'après nos différents tableaux, que les organes de Rana esculenta (par ex. poumons au 1/2000 : 9,4) présentent une activité phosphohexose isomérasique plus importante que ceux de Vipera aspis (poumons au 1/2000 : 8,1), exception faite pour l'intestin. Quant aux organes de Cavia cobaya, ce sont eux qui ont l'activité la plus faible, exception faite pour l'intestin (au 1/1000 : 17,4) qui présente une activité légèrement supérieure à celle de Vipera aspis (au 1/1000 : 12,6) et Rana esculenta (au 1/1000 : 12,5).

3°/ En ce qui concerne les différentes activités des organes exprimées en pourcentage de substrat isomérisé, en 15 minutes, nous constatons un parallélisme entre ces activités et l'intensité présumée de leur métabolisme glucidique, exception faite peut être chez Cavia cobaya où le foie présente une activité inférieure : 10 au 1/1000 à celle de l'intestin : 17,4 au 1/1000.

C'est ainsi que pour Rana esculenta : muscle : 15,8 au 1/10.000, coeur : 9,3 au 1/10.000, foie : 5,7 au 1/10.000, reins : 4,2 au 1/10.000, poumons : 4,8 au 1/5.000, intestin : 6 au 1/2.000.

4°/ Dans le cas particulier du sang, nous constatons une richesse considérable des hématies en phosphoglucose isomérase, par rapport au plasma, ce qui confirme et étend à d'autres espèces les travaux de différents auteurs et en particulier DASTUGUE, BASTIDE et CHEVALIER (58). D'après ce tableau ce sont les hématies de Vi pera aspis qui présentent l'activité P.H.I. la plus considérable : 7,2 au 1/5.000, suivi de très près par celles de Cavia cobaya : 6,2 au 1/5.000. Les hématies de Testudo graeca présentent une activité inférieure : 1,7 au 1/5.000. Quant au plasma, il semble que celui de Cavia cobaya présente la plus haute activité P.H.I. : 7 au 1/100.

° ° °

°

En définitive, nous espérons avoir apporté quelques précisions, fussent-elles assez modestes, mais cependant nouvelles, qui contribueront peut-être à une meilleure connaissance d'une des enzymes clefs de la glycolyse, dont l'étude expérimentale est encore loin d'être terminée.

Vu le 26 Novembre 1965

Le Président du Jury

G. DASTUGUE

Vu le 29 Novembre 1965

Le Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie

G. MEYNIEL

Vu et Permis d'Imprimer
N° 55/66

Clermont - Ferrand, le 3 Décembre 1965

Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université.

E. LAPALUS

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALLISON (A) et BURN (G.P.) - Enzyme activity as a function of age in the human erythrocyte - Brit. J. haematol., I, 291 (1955)
- 2 - ALTMAN (K.I.) Enzymologic aspects of the human erythrocyte - Am. J. Med., 27, 936 (1959)
- 3 - ALVARADO (F) - Glucose phosphate isomerase of intestinal mucosa - Enzymologia, Pays-Bas, 26, n° 1, 12-22 (1963)
- 4 - ANTONINI (E) DEMARCO (C) and CRIFD (S) - Phosphohexose isomerase and lactic dehydrogenase activities in horse perilymph - Experientia, 13, 37-8 (1957)
- 5 - ANTONINI (E) FIORETTI (P) and DEMARCO (C) - Glycolytic enzymes in human amniotic fluid - Experientia, 13, 357-8 (1957)
- 6 - AREND (R) ORLOWSKI (M) and HULANICKA (K) - Phosphohexose isomerase activity determinations in the cerebro spinal fluid - Polski Tygod. Lekar. i Wiadomosci Lekar., 14, 345-7 (1959)
- 7 - ARONSON (S.M.) SAIFER (A) PERLE (G) and VOLK (B.W.) - Enzyme alterations in the infantile sphingolipidoses. Correlation with pathologic changes - Am. J. Clin. NUTRITION, 9, 103-11 (1961)
- 8 - BAICH (A) WOLFE (R.G.) and REITHEL - Enzymes of the mammary gland. I : Isolation of phosphoglucose isomerase - J. Biol. Chem., 235, 3130-3 (1960)
- 9 - BALLADE (Ch) BASTIDE (P) et DASTUGUE (G) - De quelques activités enzymatiques des humeurs et des tissus de l'Escargot (*Helix Pomatia* L) - Revue de Pathologie Comparée, 1, 4, 757, p. 171-185 (1964)
- 10 - BALLADE (C) OGIER (R) FRAUX (J) BASTIDE (P) DASTUGUE (G) - Activités enzymatiques au niveau du thymus lyophilisé d'agneau - C.R. Soc. Biol., 158, 836, (1964)

- 11 - BARBAN (S) and SCHULZE (H.O.) - Effects of 2 - deoxyglucose on the growth and metabolism of cultured human cells - J. Biol. Chem., 236, 1887-90 (1961)
- 12 - BASTARRAGHEA (F) ANDERSON (D.G.) and GOLDMAN (D.S.) - Enzyme systems in mycobacteria. XI. Evidence for a functional glycolytic system - J. Bacteriol. 82, 94-100 (1961)
- 13 - BASTIDE (P) - Activités enzymatiques dans l'humeur aqueuse et le corps vitré - Thèse Doctorat Etat Médecine, Clermont-Ferrand, (1961)
- 14 - BASTIDE (P) DASTUGUE (G) ROUHER (F) TRONCHE (P) - Les enzymes de l'humeur aqueuse et vitrée - Arch. Ophthalmol., 22, n° 3, 245-52 (1962)
- 15 - BASTIDE (P) JACQUEMET (L) St. MARC (J) DASTUGUE - Activité phosphohexose isomérasique au cours de la conservation du sang - Revue Médicale de Tours, 28, 551 (1962)
- 16 - BASTIDE (P) JACQUEMET (L) SIMON (E) PLAT (P.M.) DASTUGUE (G) - Influence de la conservation sur quelques enzymes plaquettaires dans l'espèce humaine (Leucine amino peptidase, Transaminase, Phosphohexose isomérase et Aldolase) - Path. o. Biol., 10, 1519 (1962)
- 17 - BASTIDE (P) BAUDON et DASTUGUE, MEUNIER - Activité phosphohexose isomérasique dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né - Semaine des Hôpitaux (Path. et Biol.) 10, 445 (1962)
- 18 - BEISENHERZ (G) BOLTZE (H.J.) BUCHER (T) CSOK (R) GARBADE (K.M.) MEYER-ARENDT (E) und PFLEIDERER (G) - Z. Naturforsch. 8b, 555 (1953)
- 19 - BELFIORE (F) and MELDOLESI (J) - The activity of phosphohexose isomerase and acide phosphatase of erythrocytes in thalassemia and thalassodrepanocytosis. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 40, (10) 492-3 (1964)

- 20 - BERNI-CANANI (M) COLETTA (A) REA (F) MANFELLOTO (L) STEFANILE (E) - Enzyme activities of spinal fluid in subjects with progressive muscular dystrophy. II. Malic dehydrogenase and phosphohexose isomerase activities - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 38, 1016-19, (1962)
- 21 - BHATNAGAR (G.M.) and KRISHNAN (P.S.) - Enzymatic studies on the spores of *Aspergillus niger*. III. Enzymes of Embden-Meyerhof Parnas pathway in germinating spores. - Arch. mikrobiol. 37, 211-14 (1960)
- 22 - BING (R.J.) CASTELLANOS (A) GRADEL (E) LUPTON (C) and SIEGEL (A) - Experimental myocardial infarction : circulatory biochemical and pathologic changes. Am. J. Med. Sci. 232, 533 34, (1956)
- 23 - BING (R.J.) CASTELLANOS (A) SIEGEL (A) - Valeur diagnostique de l'activité de la déshydrogénase malique et de l'isomérase phosphohexose. - Journal of the American Medical association. 164, 647, (1957)
- 24 - BODANSKY (O) - Enzymes in tumor growth with special referente to serum enzyme in cancer. - In: GREENBERG (D.M.) and HARPER (H.A.) *Enzymes in health and disease.* - Ch. Thomas, Springfield, III (U.S.A.) 13, 268, (1960)
- 25 - BODANSKY (O) - Measurement of enzyme activity at any stage of a reaction. - J. Biol. Chem., U.S.A. 205, n° 2, 731-7 (1953)
- 26 - BODANSKY (O) - J.B.C. 202, 829-40 (1953)
- 27 - BODANSKY (O) - Serum phosphohexose isomerase. - J. Biol. Chem. 202, 829-40 (1953)
- 28 - BODANSKY (O) - Phosphohexose isomerase - J. Biol. Chem. 182, 93, (1953)
- 29 - BODANSKY (O) - Serum phosphohexose isomerase in Cancer. - Cancer, 10, n° 5, (1957)

- 30 - BODANSKY (O) - Serum phosphohexose isomerase in cancer, as index of tumor growth in metastatic carcinoma of prostate. - Cancer, 8, 1087-1114 (1955)
- 31 - BODANSKY (O) - Blood enzymes in cancer and other diseases - Cancer Res., U.S.A. 6, 1-80 (1961)
- 32 - BODANSKY (O) - Serum phosphohexose isomerase in cancer, I. Method of determination and establishment of range of normal values - Cancer, 7, 1191-9 (1954)
- 33 - BODANSKY (O) - J. Biol. Chem., 120, 555, (1937)
- 34 - BODANSKY (O) - Science, 86, 52 (1937)
- 35 - BODANSKY (O) - BOWERS (G.N.) - Phosphohexose isomerase. - Mand. Methods Clin. Chem. U.S.A. 3, 182-93 (1961)
- 36 - BODANSKY (O) GERSHTEN (B) and WILSON (C) - As in index of tumor growth in metastatic carcinoma of the breast. - Cancer, 7, 1200-226 (1954)
- 37 - BODANSKY (O) and SCHOLLER (J) - Comparison of phosphohexose isomerase and lactic dehydrogenase activities in Plasma, Liver, and Tumor Tissue of Tumor-bearing Rats. - Cancer Research, 16, (n° 9) 894-99 (1956)
- 38 - BRAGINSKIJ (O.M.) - Sur la methode de détermination de l'activité de la phosphohexose isomerase sérique. - Lab. Delo, S.S.S.R., n° 2, 75-6 (1964)
- 39 - BRANDSTRUP (N) KIRK (J.E.) BRUNI (C) - The hexokinase and phosphohexose isomerase activities of aortic and pulmonary artery tissue in individuals of various ages. - J. of Geront., U.S.A. 12, n° 2, 166-71 (1961)
- 40 - BRAUNER (R) SORU (E) MINCU (I) NEGOESCU (V) HOANCA (O) and BUZELAN (A) - Enzymological investigation of chronic hepatitis and hepatic cirrhosis. Med. interna 12, 1629-44 (1960)

- 41 - BROUN (G) - Enzymes erythrocytaires et infestation a plasmodium Berghei chez la souris. - Rev. Franc. Etudes Clin. et Biol. 6, 695-9 (1961)
- 42 - BRUNS (F) HINSBERG (K) Bestimmung und Eigenschaften der phosphohexose isomerase des serums. - Biochem. Z. Dtsch., 325, n° 7, 532-6 (1954)
- 43 - BRUNS (F.H.) JACOB (W) WEVERINCK (F) - Phosphohexose isomerase, Phosphoriboisomerase und Milchsaure deshydrogenase im Liquor cerebrospinalis. Clin. Chim. Acta. Pays-Bas, I, n° 1, 63-6 (1956)
- 44 - BRUNS (F) and NEUHAUS (J) - The activity of some serum and liver enzymes in the experimental carbon tetrachlorid injury in mouse. - Biochem. Z. 326, 242-51 (1955)
- 45 - BRUNS (F) and NEUHAUS (J) - Glycolytic serum and liver enzyme activities in experimental liver damage. Arch. Biochem. and Biophys. 55, 588-91 (1955)
- 46 - BRUNS (F) and OKADA (S) - Thermodynamic aspects of the action of phosphohexose isomerase. - Nature 177, 87-8 (1956)
- 47 - BRUNS (F.H.) VAHLHAUS (E) - Phosphoriboisomerase und Phosphohexose isomerase in Serum, roten Blutzellen und gewebe - Naturwissenschaften, Dtsch., 43, n° 8, 180 (1956)
- 48 - CANDY (D.J.) and KILBY (B.A.) - Chitin synthesis in the desert locust. - J. Exptl. Biol. 39, 129-40 (1962)
- 49 - CARSON (P.E.) FLANAGAN (C.L.) ICKES (C.E.) et ALVING (A.S.) - Enzymatic deficiency in primaquine sensitive erythrocytes. - Science, 124, 184 (1956)
- 50 - CHEFURKA (W) - Oxidative metabolism of carbohydrates in insects. I. Glycolysis in the housefly musca domestica. - Enzymologia, 17, 73-89 (1954)

- 51 - CHURY (Z) and TOVAREK (J) - Enzyme activity in bone marrow - Folia. Haematol., 78, 70-4 (1961).
- 52 - COOPER (J) SRERE (P.A.) TABACHNICK (M) und RACKER (E) - Arch. Biochem. Biophys. 74, 306 (1958)
- 53 - CORY (G.T.) OCHOA (S) SLEIN (M.W.) and CORI (C.F.) - Themetabolism of fructose in liver. Isolation of fructose I phosphate and and inorganic pyrophosphate. - Biochem. et biophys. acta 7, 304-17 (1951)
- 54 - CRAINE (E.M.) and HANSEN (R.G.) - Biological activity of phosphate esters in mammary gland extracts J. Dairy Sci. 37, 1027-34 (1954)
- 55 - DAMODARAN (M) JAGANNATHAN (V) and SINGH (K) Carbohydrate metabolism in citric acid fermentation. III. Variation in glycolytic enzyme content of aspergillus niger during citric acid fermentation. - Enzymologia, 17, 199-206 (1955)
- 56 - DASTUGUE (G) - Les vipères vues par les physiologistes. - Bulletin historique et scientifique de l'Auvergne. 61, p. 36 (1941)
- 57 - DASTUGUE (G) BALLADE (Ch) et BASTIDE (P) - Activités leucine amino peptidasique, lacticodehydrasique et phosphohexose isomérasiqye de la rétine chez les bovidés. - C.R. Soc. Biol. tome 157, n° 3, p. 540 (1963)
- 58 - DASTUGUE (G) BASTIDE (P) and CHEVALIER (M.C.) De quelques activités enzymatiques de différents hé-molysats en fonction de la dilution. - Compte Rend. Soc. Biol. 156, 648-50 (1962)
- 59 - DASTUGUE (G) BASTIDE (P) et DUBIEF - Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 94, 203 (1955)

- 60 - DASTUGUE (G) BASTIDE (P) et PLAT (P.M.)
l'équipement enzymatique des plaquettes sanguines
Annales de Biologie clinique, 3-4, 244 (1964)
- 61 - DASTUGUE (G) JACQUEMET (L) BASTIDE (P)
SIMON (E.T.) et PLAT (P.M.) - A propos de quel-
ques enzymes plaquettaires dans l'espèce humaine ,
Leucineamino peptidase et Transaminases glutamique
oxalacétique et glutamique pyruvique. - 8° Congrès
Européen Soc. Hématol. Vienne, 1961, Karger ed.,
Basel, 366 (1962)
- 62 - DASTUGUE (G) JACQUEMET (L) BASTIDE (P)
SIMON (E) et GREZE (E) - Variations de quelques activités
enzymatiques du sang humain au cours de sa conserva-
tion. - Transfusion, 4, 73 (1961)
- 63 - DASTUGUE (G) et Mme JOY. - Les éléments figurés
du sang de vipère. - C.R. Soc. Phys. Biologique, 45,
p. 3. (1941)
- 64 - DASTUGUE (G) THIEBLOT (L) BASTIDE (P) BOYER
(J) BLAISE (S). - Premières recherches sur les ac-
tivités enzymatiques de la glande pinéale (aspirine =
esterase, phosphatase acide et alcaline, 5 nucléotidase,
leucine amino peptidase, adénosine triphosphatase,
transaminases, glutamique oxalo acétique et glutamique
pyruvique, créatine phosphokinase ornithine carbamyl
transférase, aldolase, lactico déhydrase, fumarase
phosphohexose isomérase). - Journal de physiologie,
55, n° 2, 133-134 (1963)
- 65 - DISCHE (Z) and LANDSBERG (E) - Colorimetric
procédure for the determination of triose phosphate
and fructose 1-6 diphosphate in presence of other su-
gars. - Biochem. et Biophys. Acta 39, 144-7 (1960)
- 66 - DREYFUS (J.C.) SCHAPIRA (G) and SCHAPIRA (F)
Biochemical study of muscle in progressive muscular
dystrophy. - J. Clin. Invest. 33, 794-797 (1954)

- 67 - EDELMAN (J) GINSBURG (V) and HASSID (W.Z.)
Conversion of monosaccharides to sucrose and cellulose in wheat seedlings. - J. Biol. Chem. 213, 843-54 (1955)
- 68 - FAULKNER (P). - Enzymic reduction of sugar phosphates in insect blood. - Biochem. J. 64, 436-41 (1956)
- 69 - FELLEBERG (R.V.) EPPENBERGER (H.M.)
RICHTERICH (R) and AEBI (H). - The glycolytic enzym pattern of liver, kidney, skeletal muscle, cardiac muscle, and cerebrum of the rat and mouse. - Biochem. Z. 336, 334-50 (1962)
- 70 - FODOR (P.J.) and BODANSKY (O). - Effect of administration of 6 methyl purine on diffusion of phosphohexose isomerase, lactic dehydrogenase, nitrogen, and deoxyribonucleic acid from rat liver slices. - Enzymologia 21, 159-68 (1959)
- 71 - FRANCHI (F) IGNESTI (C) and GENTILINI (P).
Behavior of some glycolytic enzymes in experimental steatosis of the livers produced by prolonged feeding with cholesterol. - Arch. Studio Fidio Pathol. Clin. Ricambio 28 (1), 35-48 (1964)
- 72 - FRIEDMAN (S). - The influence of amino acids on fructose utilization in *Bacterium phosphorescens* indigenous. - J. Bacteriol. 67, 523-9 (1954)
- 73 - GANGULI (N.C.) and BANERJEE (A.B.) - Metabolic studies on scorbutic guinea pigs. I. Hepatic glucose 6 phosphate metabolism. - J. Biol. Chem. 236, 979-82 (1961)
- 74 - GATTI (A) GIUSTINA (G) LIBRO (D) and MAGGI (N)
Serum lactic dehydrogenase and phosphohexose isomerase changes in various hematological diseases. Prog. med. 17, 187-92 (1961)

- 75 - GERDAGY HJELM SOERENSEN and N. SCHWARTZ SOERENSEN. - The activity in serum of the enzymes glutamic oxalacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, lactic deshydrogenase and phosphohexose isomerase in diabetes and obesity. - Repts. Steno. Mem. Hosp. Nord-Insulin. Lab 11, 195-209 (1963)
- 76 - GIBBS (M) EARL (J.M.) and RICHTIE (J.L.)
Respiration of the pea plant. Metabolism of hexose phosphate and triose phosphate by cell free extracts of pea roots. - Plant Physiol. 30, 463-7 (1955)
- 77 - GRAZI (E) FLORA (A de) PONTREMOLI (S). - The inhibition of phospho glucose isomerase by D-erythrose phosphate. - Biochem. Biophys. Res. Communic. U.S.A., 2, n° 1-6, 121-5 (1960)
- 78 - GROMASHENVSKAYA (L.L.) DEMIN (V.I.) GETTE (Z.P.) DEMCHENKO (V.N.) and MIRONOVA (E.M.)
Enzymes of blood serum in Botkin's infections hepatitis. - Vopr. Med. Khim. 10(3), 246-52 (1964)
- 79 - GRONVALL (C) - Serum activity of lactic acid dehydrogenase and phosphohexose isomerase in pernicious and hemolytic anemias. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13, 29-36 (1961)
- 80 - GULYI (M.F.) and KOLOMIICHENKO (M.A.) - The nature of the interaction between enzyme and polysaccharide in the phosphorylation reaction. - Ukrain. Biokhim. Zhur. 21, 228-37 (1949)
- 81 - HAVRANEK (J) and MALINAKOWA (H). - The diagnostic and prognostic significances of transaminases and phosphohexose isomerase in myocardial infarction. Z. Ges. Inn. Med. u. IHRE Grenzgebiete 16, 659-64 (1961)
- 82 - HELMREICH (E) GOLDSCHMIDT (S) LAMPRECHT (W) and RITZL (F). - Comparison of the dissimilation of fructose and glucose. II. Effect of carbohydrate, in particular of fructose, on the extent and rate of formation of active acetate and pyruvic acid in rat liver. Hoppe Seylers Z. physiol. chem. 292, 184-206 (1953)

- 83 - HESS (B) Enzymes in blood plasma - Academic Press (1963)
- 84 - HEYNDRICKX (G.V.) - Investigations on the enzymes in human milk. - Ann. Paediat. 198, 356-62 (1962)
- 85 - HEYNDRICKX (G.V.) - Relation of the phosphohexose isomerase activity to the electrophoretic protein fraction in blood and milk. - Enzymologia, Pays-Bas , 27, n° 3, 209-16 (1964)
- 86 - HILKER (D.M.) and WHITE (A.G.C.) - Carbohydrate metabolism of *Endamoeba histolytica*. - Exptl. Parasitol. 8, 539-48 (1959)
- 87 - HINES (M.C.) WOLFE (R.G.) - Phospho glucose isomerase II Influence of pH on Kinetic parameters. - Biochemistry, U.S.A., 2, n° 4, 770-5 (1963)
- 88 - HOARE (D.S.) KERLY (M) - Phosphorylation of carbohydrates in retinal extracts. - Biochem. J.G.B. 58, n° 1, 38-44 (1954)
- 89 - ISRAELS (L.G.) and DELORY (G.E.) - Serum isomerase in leukemia. - Brit. J. Cancer, 10, 318-20 (1956)
- 90 - JAGANNATHAN (V) and SINGH (K) - Carbohydrate metabolism in citric acid fermentation. II. The glycolytic enzymes of *Aspergillus niger*. - Enzymologia 16, 150-60 (1963)
- 91 - JEGATHEESAN (K.A.) and JOPLIN (G.F.) - Serum glycolytic enzymes and acid phosphatases in mammary carcinomatosis. - Proc. Roy. Soc. Med. 53, 197-8 (1960)
- 92 - JONADET (M) - Activités aldolasiques et phosphohexose isomérasiques au niveau de la cornée chez les bovidés. Pathol. et Biol., 12, 461 (1964)

- 93 - JONADET (M) DASTUGUE (G) and BASTIDE (P).
Activités aldolasiques et phosphohexose isomérasique
dans les cornées de Bovidés. - Pathol. Biol. Semai-
ne des Hôpitaux 12 (7-8) 461-3 (1964)
- 94 - KAHANA (S.E.) LOWRY (O.H.) SCHULZ (D.W.)
PASSONNEAU (J.V.) and CRAWFORD (E.J.) -
J. Biol. Chem. 235, 2178 (1960)
- 95 - KARPIAK (S) - Glycogen hydrolysis and transglyco-
silation in the muscles of fresh water mussels. -
Acta Physiol. Polon. II, 161-71 (1960)
- 96 - KATZNELSON (H) and ZAGALLO (A.C.) - Metabo-
lism of Rhizobia in relation to effectiveness. - Can.
J. Microbiol. 3, 879-84 (1954)
- 97 - KELLERMAN (G.M.) - Metabolism of the seminal ve-
sicle of guinea pig. Role of hexokinase and phosphatase
in the formation of fructose. - Australian J. Exptl.
Biol. Med. Sci. 33, 579-92 (1955)
- 98 - KING (E.J.) - Enzymes in clinical biochemistry.
Clin. Chem. U.S.A., 3, n° 4, suppl. 507-47 (1957)
- 99 - KLOTZSCH (H) und BERGMAYER. - Z. Angew.Chem.
72, 920 (1960)
- 100 - KONSISTORUM (A.V.) - The activity of phosphohexo-
se isomerase in children with Botkin's disease. -
Lab. Delo. 8, n° 11, 27-9 (1962)
- 101 - KRAHL (M.E.) KELTCH (A.K.) WALTERS (C.P.)
and CLOWES (G.H.A.) - Glucose 6 phosphate and
6 phosphogluconate dehydrogenase from eggs of sea
urchins. - J. Gen. Physiol. 38, 431-9 (1955)
- 102 - KURATA (Y) MAEDA (S) IWATA (T) and MISUKAMI
(T) - Phosphorylase, phosphoglucomutase and phos-
phohexose isomerase activities during embryonal deve-
lopment of the frog. - Iqaku to Seibutsugaku 36, 154-6
(1955)

- 103 - LEVINE (M) - An enzymic comparison of two interbreeding but genetically isolated varieties of *Paramecium aurelia*. - J. Cellular Comp. Physiol. 45, 409-19 (1955)
- 104 - LIPSETT (M) REISBERG (R.B.) and BODANSKY (O) Reactions of purified tissue phosphohexose isomerase with liver phosphohexose isomerase antiserum. Arch. Biochem. Biophys. 84, 171-82 (1959)
- 105 - LOHMAN (K) - Über Phosphorylierung und dephosphorylierung Bildung der natürlichen hexose monophosphorsäure aus ihren Komponenten. - Biochem. Z. 262, 137-51 (1933)
- 106 - LOHR (G.W.) - Biochemische defekte bei der Glanzmann Naegeli'schen thrombopathie. - 1er Sympo. Europ. Enzymologia Medica, Milan, 1960, Karger ed, Bale, (1961)
- 107 - MAITRA (P.K.) and ROY (S.C.) - Pathways of glucose dissimilation by *Streptomyces olivaceus*. J. Biol. Chem. 234, 2497-503 (1953)
- 108 - MARAZZINI (F) and TESSARI (L). - Demonstration of some glycolytic enzymes in the human placenta. Boll. soc. ital. Biol. sper. 33, 880-2 (1957)
- 109 - MARCO (C. de) ANTONINI (E) MARI (S). - Attività fosfoisomerasica del siero di sangue del neonato. Arch. Sci. Biol., Ital., 41, n° 3, 286-90 (1957)
- 110 - MARKS (P.A.) JOHNSON (A.B.) HIRSCHBERG (E) and BANKS (J) - Effect of age on the enzyme activity in erythrocytes. - Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 44, 529-36 (1958)
- 111 - MARKS (P) et JOHNSON (A.B.) - Relationship between the age of human erythrocytes and their osmotic resistance, a basis for separating young and old erythrocytes. - J. Clin. Invest. 37, 1542 (1958)

- 112 - MARTIN (G.B.) and TARR (H.L.A.) - Phosphoglucose mutase, phosphoribomutase, and phosphoglucose isomerase of lingcod muscle. - Can. J. Biochem. Physiol. 39, 297-308 (1961)
- 113 - Mc CANN (W.P.) - Quantitative histochemistry of the dog nephron. - Am. J. Physiol. 185, 372-6 (1956)
- 114 - MERTEN (R) and ESS (H) - Glycolytic enzymes of erythrocytes. - Arztl. Forsch. 12, 517-28 (1958)
- 115 - MEUNIER (S) - Activités enzymatiques du placenta, des sangs de la mère et du nouveau-né. Thèse Doctorat Université Pharmacie. Clermont-Ferrand (1962)
- 116 - MUSLANI (S) VANNUCHI (C) and CORSINI (F) - Plasma phosphohexose isomerase activity in children of various ages. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 37, 195-7 (1961)
- 117 - MYTAREVIA (L.V.) - Influence of ionizing radiation on phosphohexose isomerase in organs and tissues of animals after whole body irradiation. - Voprosy Radiobiol., Tsentral. Nauch. Issledovatel. Inst. Med. Radiol. 3, 183-7 (1960)
- 118 - NIKKILA (E.A.) PITKANEN (E) VOOPPIO (P) and FORSELL (O) - Erythrocytes enzymes in anemias of different etiology. - Ann. Med. Internae Fenniae 49, 187-95 (1960)
- 119 - NIMMI (M.E.) - Dietary adaptation and the level of G.6. P. and phosphohexose isomerase of rat liver. - J. Nutrit. U.S.A. 73, n° 4, 352-4 (1961)
- 120 - NINGER (E) JEZEK (P) ANTOS (V) and TOVAREK (J) - Serum enzymes in epidemic hepatitis. - Vnitřní lékařství 6, 767-73 (1960)
- 121 - NOLTMANN (E.A.) - Isolation of crystalline phosphoglucose isomerase from rabbit muscle. - J. Biol. Chem., U.S.A. 239, n° 5, 1545-50 (1964)

- 122 - NOLTMANN (E) BRUNS (F.H.) - Reindarstellung und Eigenschaften von phosphoglucose isomerase aus Hefe Biochem. Z. Dtsch. 331, n° 5, 436-45 (1959)
- 123 - NOTKINS (A.L.) GREENFIELD (R.E.) MARSHALL (D) and BANE (L) - Multiple enzymes changes in the plasma of normal and tumor bearing mice following infection with the lactic dehydrogenase agent. - J. Exptl. Med. 117, 185-95 (1963)
- 124 - ORLOWSKI (M) - Occurence and activity estimation of phosphohexose isomerase in the cerebro spinal fluid Polski Tygod. Lekar i Wiadomosci Lekar 13, 1421-3 (1958)
- 125 - PALKOVIC (M) MACHO (L) and POOR (J) - Effect of A.C.T.H. on the activity of adrenal glucose 6 phosphate metabolizing enzymes in the Rat. - Physiol. Bohomoslov. 13 (4), 358-61 (1964)
- 126 - PARR (C.W.) - Inhibition of phosphoglucose isomerase - Nature, G.B., 178, n° 4547, 1401 (1956)
- 127 - PAXTON (H.D.) - Quantitative histochemistry of brain tumors and analogues normal tissue. - Neurology 9, - 367-70 (1959)
- 128 - PEETERS (G) DEBACKERE (M) and SIERENS (G) - Carbohydrate metabolism in mammary gland tissue - Verhandel. Koninkl. Vlaam. Acad. Geneesk. Belv. 18,
- 129 - PEETERS (G) DEBACKERE (M) and SIERENS (R) - Oxidative cycle of the hexose monophosphates in mammary tissue studied by paper chromatographie. - Arch. Intern. Physiol. et Biochim. 65, 324-36 (1957)
- 130 - PEREZ GEIJO (J.A.) and ALVARADO (F) - Distribution of isomerases for free and phosphorylated sugars Rev. Españ. Fûsiol. (14) 225-7 (1958)

- 131 - PLAGEMANN (P.G.W.) WATANABE (E) and SWIM (H.E.) - Plasma lactic deshydrogenase elevating agent of mice. Effect on levels of additional enzymes. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 111, 749-54 (1962)
- 132 - PLAT (P.M.) - Activités enzymatiques des plaquettes sanguines chez l'homme normal. - Thèse Doctorat en Médecine (1962)
- 133 - POJER (J) NINGER (E) SEVELA (M) and TORAVEK (J) - Enzyme picture in cases of myocardial infarction. - Acta. Fac. Med. Univ. Brunensis, n° 3 , 5-21 (1959)
- 134 - PRANKERD (T.A.J.) - The activity of enzymes in metabolism and transport in red cells. - Int. Rev. Of. Cyt., 5, 279, (1956)
- 135 - RAFALOWICZ (A) JABLONSKA (M) WOLANSKA (A) and MULLER - Phosphohexose isomerase in neoplastic diseases. A comparison of the diagnostic value of lactic dehydrogenase and phosphohexose isomerase determinations. - Nowotwory 10, 113-20 (1960)
- 136 - RAMASARMA (T) GIRI (K.V.) - Phospho glucose isomerase of gram (phaseolus radiatus) - Arch. Biochem. 62 (1), 91-6 (1956)
- 137 - RAPS (S) and DEMOSS (R.D.) - Glycolytic enzymes in Zymomonas mobilis. - J. Bacteriol. 84, 115-18 (1962)
- 138 - RINAUDO (M.T.) - Glycogenesis in the liver of chicken embryo. - Enzymologia 24, 230-6 (1962)
- 139 - RISIO (C de) and CUMINGS (J.N.) - Enzyme studies in cerebral tumors and in the cerebro spinal fluid. - Riv. Neurobiol. 6, 535-45 (1960)
- 140 - ROE (J.H.) - A colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine. - J. Biol. Chem. 107, 15, (1934)

- 141 - ROSE (I.A.) O'CONNEL (E.L.) - Intramolecular hydrogen transfer in the phosphoglucose isomerase reaction. - J. Biol. Chem. U.S.A., 236, n° 12, 3086-92 (1961)
- 142 - ROSE (A) WEST (M) and ZIMMERMAN (H.J.) - Serum enzymes in disease. Isocitric deshydrogenase, malic deshydrogenase and glycolytic enzymes in patients with carcinoma of the breast. - Cancer, 14, 726-33 (1961)
- 143 - SABLE (H.Z.) and CALKINS (C.W.) - Phosphoglucose mutase and phosphohexose isomerase in tunicates. - J. Biol. Chem. 204, 695-703 (1953)
- 144 - SAXENA (Y.R.) VISWANATHAN (P.N.) MEHROTRA (R.M.L.) and KRISHNAN (P.S.) - Influence of exogenous thyroxine on liver enzymes and glycogen and adrenal ascorbic acid in albino rats. Enzymologia, 23, 57-70 (1961)
- 145 - SCHAPIRA (G) DREYFUS (J.C.) - Enzymes sériques et maladies du muscle strié. - Europ. Symp. med. Enzymol., Milano 1960, C.R., pp. 119-134.
- 146 - SCHAPIRA (G) DREYFUS (J.C.) SCHAPIRA (F) and KRUH (J) - Glycogenolytic enzymes in human progressive muscular dystrophy. - American Journal of Physical Medicine, 34, (n° 1) 313-19.
- 147 - SCHIRREN (C) BELTERMANN (R) HAENSCH (M) KOEHN (D) and LOSSIN (J) - Biochemical investigations on human sperm. plasma. Zinc and phosphohexose isomerase activity. - Arch. Klin. Exptl. Dermatol. 218 (4) 323-38 (1964)
- 148 - SCHLOSS (M.F.) and HUTCHINSON - The Importance of enzyme chemistry in the clinical laboratory. - Am. J. Med. Technol. 26, 89-98 (1960)

- 149 - SCHOLLER (J) BODANSKY(O) FORTNER (J.G.)
PHILIPS (F.S.) and STERNBERG (S) - The effects
of the toxic agents on plasma phosphohexose isomera-
se activity. - Proceed. of the Amer. Assoc. Cancer
Research 2, 145, (1956)
- 150 - SCHWARTZ (M.K.) KESSLER (G) and BODANSKY (O)
Automation of enzyme determination P.H.I. - Ann.
N.Y. Acad. Sci. 87, 602-651, 28 (1960)
- 151 - SCHWARTZ (M.A.) WALSH (W.S.) WEST (M) and
ZIMMERMAN (H.J.) - Serum enzymes in disease.
Glycolytic and oxydative enzymes and transaminases
in patients with carcinoma of the head, neck and eso-
phagus. - Cancer, 15, 927-30 (1962).
- 152 - SERVETTAZ (O) - Presence of the cycle of direct
oxidation of hexose monophosphate in plant mitochon-
drial preparations. - Atti. accad. nezl. Lincei. Rend.,
classe sci. fis., mat. e nat. 20, 255-62 (1956)
- 153 - SHAN-CHIUNG SHEN, CHUN-PIAO CHEN and MUNG-
MING HUNG. - Carbohydrate metabolism of strepto-
myces aureofaciens. I. Embden-Meyerhof. Parras
system and the secondary conversion through hexose
monophosphate. - Shenq LI Hsuch Pao 21, 302-10
(1957)
- 154 - SHANKAR (K) and BARD (R.C.) - Effect of metallic
ions on the growth, morphology and metabolism of
clostridium perfringens. I. Magnesium. - J. Bacterio.
69, 436-43 (1955)
- 155 - SLEIN (M.W.) - Methods in Enzymology Vol. 1, 304
(1955)
- 156 - SLEIN (M.W.) - Phosphomannose isomerase. -
J. Biol. Chem. 186, 753-61 (1950)

- 157 - SLESINGER (L) and TOVAREK (J) - The activity of glutamic oxalacetic transaminase (G.O.T.) glutamic pyruvic transaminase (G.P.T.), aldolase, lactic dehydrogenase, malic dehydrogenase, phosphohexose isomerase and the level of fructose in the ejaculate of healthy bulls. - Sbornik Ceskoslov. akad. zemedel. ved. Vet. med. 5, 439-44 (1960)
- 158 - SOMERS (G.F.) and COSBY (E.L.) - ABB 6, 295 (1945)
- 159 - SOMERS (G.F.) and COSBY (E.L.) - Conversion of fructose 6 phosphate into glucose 6 phosphate in plant extracts. - Arch. Biochem. 6, 295 (1945)
- 160 - STARR (T.J.) and KLEIN (H.P.) - Enzymes involved in the utilization of carbohydrate by two strains of myxobacterie. - Arch. Mikrobiol. 20, 235-42 (1954)
- 161 - SZCZEKLIK (E) ORLOWSKI (M) and LUKASIK (S) - Comparing activity of certain enzymes in pathological body fluids and blood. - Polski Tygod. Lekar. 16, 941-5 (1961)
- 162 - TANKO (B) - B.J. 30, 692 (1936)
- 163 - TANKO (B) - Weber die Spezifitat der phosphohexose isomerase. - Acta physiol. Acad. Sci. ungar. 3, n° 1, 15-24 (1952)
- 164 - TERRANOVA (T) and FED (F) - Glucose 6 phosphate deshydrogenase, 6 phospho gluconic dehydrogenase, and hexose phosphate isomerase in normal pathological bacterial cells. - Zentr. Bakteriол. Parasitenk. Abt. I Oriq. 182, 113-21 (1961)
- 165 - THOMPSON (H.G.) HIRSCHLBERG (J.E.) OSNOS (M) and GELLHORN (A) - Evaluation of phosphohexose isomerase activity in cerebrospinal fluid in neoplastic disease of the central nervous system. - Neurology 9, 545-52 (1959)

- 166 - TOPPER (Y.J.) - On the mechanism of action of phospho glucose isomerase and phosphomannose isomerase. - J. Biol. Chem. U.S.A., 225, n° 1, 419-25 (1957)
- 167 - TSUBOI (K.K.) ESTRADA(J.) and HUDSON (P.B.) Enzymes of the human erythrocytes. Phosphoglucose isomerase, purification and properties. - J.B.C. 231, n° 1, 19-29 (1958)
- 168 - TSUBOI (K.K.) ESTRADA (J.) HUDSON (P.B.) - Purification and properties of erythrocyte phosphohexose isomerase. - Proc. amer. Assoc. Cancer Res. 2, n° 2, 154, (1956)
- 169 - VACCA (G) FERRO (G.F.) and PIASCO. - Comparative study of serum leucine amino peptidase, phosphohexose isomerase and citric dehydrogenase in hepatobiliary pathology. - Minerva Med., 53, 1933-7 (1962)
- 170 - VANDERMARK (P.J.) and WOOD (W.A.) - The pathways of glucose dissimilation by microbacterium lacticum. - J. Bacteriol. 71, 385-92 (1956)
- 171 - VANNUCHI (C) and MUSIANI (S) - Activity of phosphohexose isomerase in blood platelets of children. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 37, 275-7 (1961)
- 172 - VARDANIS (A) and HOCHESTER (R.M.) - The mechanism of glucose metabolism in the plant tumor inducing organism. *Agrobacterium tumefaciens*. - Can. J. Biochem. and Physiol., 39, 1165-82 (1961)
- 173 - VOLK (W.A.) and MYRVIK (Q.N.) - Intermediary metabolism of glucose by mycobacterium smegmatis. - Am. Rev. Tuberc. 73, 589-92 (1956)
- 174 - WALLENFELS (K) SUMM (H.D.) and CREUTZFELDT Enzymic studies of the mechanism of action of drugs with a hypoglycemic effect. - Deut. med. Wochschr., 82, 1581-5 (1957)

- 175 - WALLER (H.D.) LOEHR (G.W.) KARGES (O) and GROSS (R) - Fermenteigenschaften und Energiestoffwechsel der Thrombocyten. - Proceedings Inter. Congress. Inter. Soc. Hemat. Panseiro Scientifico, Rome 796 (1958)
- 176 - WARBURG (O) and CHRISTIAN - W. Gärungsfermente im Blutserum von Tumor Ratten. - Biochem. Ztschr., 314, 399-408 (1943)
- 177 - WEBER (G) - Behavior of fructose 1-6 diphosphatase and other carbohydrate enzymes under physiologic and pathologic conditions. Fructose 1-6 diphosphatase. Its Role Gluconeogenesis. - Symp. Univers. Virginiana 1961, 57-84, discussion 84-8 (Publ. 1964)
- 178 - WEBER (G) BANERJEE (G) and ASHMORE (J). - Activities of enzymes involved in glycolysis, gluconeogenesis, and the hexose monophosphate shunt in rat adipose tissue. - Biochem. Biophys. Research. Communis. 3, 182-6 (1960)
- 179 - WEBER (G) BANERJEE (G) and BRONSTEIN (S.B.) - Selective induction and prevention of enzyme synthesis in mammalian liver. - Biochem. Biophys. Research. Communis. 4, 322-7 (1961)
- 180 - WEBER (G) BANERJEE (G) and BRONSTEIN (S.B.) - Selective induction and suppression of liver enzyme synthesis. - Am. J. Physiol. 202, 137-44 (1962).
- 181 - WEBER (G) BANERJEE (G) and BRONSTEIN (S.B.) - Role of enzymes in homeostasis. III. Selective induction of increases of liver enzymes involved in carbohydrate metabolism. - J. Biol. Chem. 236, 3106-11 (1961)
- 182 - WEBER (G) and CANTERO. - Behavior of enzymes in glucose 6 phosphate utilization during 6 day fasting. Study of hepatic glucose 6 phosphatase, phosphohexose isomerase, and phosphoglucose mutase. - Exptl. Cell Research 14, 596-607 (1958)

- 183 - WEBER (G) and CANTERO (A) - Effect of fasting on liver enzymes involved in glucose 6 phosphate utilization.- Am. J. Physiol. 190, 229-34 (1957)
- 184 - WEBER (G) and CANTERO (A) - Effect of orinase on hepatic enzymes involved in G6P utilization. - Meta-bolism. Clin. and Exptl. 7, 333-37 (1958)
- 185 - WEBER (G) and CANTERO (A) - G.6. P. utilization in hepatoma, regenerating and new born rat liver, and in the liver of fed and fasted normal rats. - Cancer research. 17, 995-1005 (1957)
- 186 - WEBER (G) CANTERO (A) - Human liver enzymes of G.6. P. utilization. - Science, U.S.A., 126, n° 3280, 977-8 (1957)
- 187 - WEBER (G) SUMATI (V) BHIDE and SHARON'S MANWARING - An in Vitro system for studying hormonal induction of hepatic gluconéogenic enzymes. - Biochem. Biophys. Res. Commun 16 (2) 167-73 (1964)
- 188 - WEST (M) GELB (D) PILZ (C.G.) and ZIMMERMAN (H.J.) - Serum enzymes in disease. Significance of abnormal serum enzyme levels in cardiac failure. - Am. J. Sci. 241, 350-8 (1961)
- 189 - WEST (M) SCHWARTZ (M.A.) COHEN (J) and ZIMMERMAN (H.J.) - Serum enzymes in disease XV. Glycolytic and oxidative enzymes and transaminases in patients with carcinoma of the Kidney, prostate and urinary bladder. - Cancer 17 (4), 432-7 (1964)
- 190 - WEST (M) SCHWARTZ (M) and ZIMMERMANN (H.J.) Plasma glycolytic, citric acid cycle, and transaminase enzymes levels in hamsters with a transplanted mammary adenocarcinoma. - J. Natl. Cancer Inst., 27, 1145-52 (1961)
- 191 - WOOD (W.A.) and SCHWERDT (R.F.) - Carbohydrate oxidation by *Pseudomonas fluorescens*. II. Mechanism of hexose phosphate oxidation. - J. Biol. Chem. 206, 625-35 (1954)

- 192 - WORTMAN (B) and BECKER (B) - Enzymic activities of the lens. A preliminary survey. - Am. J. Ophthalmol., 42, Pt II, 342-6 (1956)
- 193 - WUST (H) - Glycolytic enzyme in human azoospermic and normal seminal plasma (phosphohexose isomerase) - Arch. Klin. U. exptl. Dermatol. 205, 351-6 (1957)
- 194 - YCAS (M) - Respiratory and glycolytic enzymes of sea urchin eggs - J. Exptl. Biol. 31, 208-17 (1954)

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	1
RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES.....	5
Chapitre I - Généralités	6
II - Propriétés	8
III - Techniques de dosage.....	17
IV - Répartition	27
RECHERCHES EXPERIMENTALES	37
INTRODUCTION	38
Chapitre I - Phosphohexose isomérase chez Rana esculenta.....	47
II - Phosphohexose isomérase chez Vipera aspis.....	53
III - Phosphohexose isomérase chez Cavia cobaya	61
IV - Phosphohexose isomérase chez Testudo graeca	73
RESUME et CONCLUSIONS GENERALES	76
BIBLIOGRAPHIE.....	79

